

癌钙蛋白在视神经损伤修复中的作用及研究进展

赵亮¹, 许家军²

作者单位:¹(200433)中国上海市,第二军医大学附属长海医院
实习大队本科生队;²(200433)中国上海市,第二军医大学解剖
学教研室

作者简介:赵亮,第二军医大学06级临床医学八年制学员,研究
方向:神经损伤修复及再生。

通讯作者:许家军,教授,副主任,硕士研究生导师,研究方向:神
经解剖学、神经损伤修复及再生. raulliang008@163. com

收稿日期:2011-05-20 修回日期:2011-08-10

DOI:10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2011. 10. 016

赵亮,许家军. 癌钙蛋白在视神经损伤修复中的作用及研究进
展. 国际眼科杂志 2011;11(10):1737-1739

Roles and research advance of oncomodulin in optic nerve repair

Liang Zhao¹, Jia-Jun Xu²

¹The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China;²Staff Room of Anatomy, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Correspondence to: Jia-Jun Xu. Staff Room of Anatomy, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China. raulliang008@163. com

Received:2011-05-20 Accepted:2011-08-10

Abstract

• As a special kind of calmodulin, oncomodulin (OncoM or OCM) has always been considered as a regulatory factor in the occurrence, growth of tumor only. However, researches of recent years showed that OCM also played an important role in optic nerve repair, which provided a broad field for the treatment of optic nerve injury. Roles and research advance of OCM in optic nerve repair are reviewed in this paper.

• KEYWORDS: oncomodulin; optic nerve repair; axon regeneration

Zhao L, Xu JJ. Roles and research advance of oncomodulin in optic nerve repair. *Guji Yanke Zazhi(Int J Ophthalmol)* 2011;11(10): 1737-1739

摘要

作为一种特殊的钙调蛋白,癌钙蛋白(oncomodulin, OncoM, OCM)一直被认为只在肿瘤的发生、生长中起调节作用。然而近年来研究发现,OCM对视神经损伤具有修复功能,为神经损伤的治疗提供了更为广阔的视野。本文就目前OCM在视神经损伤修复中的作用及研究进展作一综述。

关键词:癌钙蛋白;视神经损伤修复;轴突再生

0 引言

1979年MacManus^[1]在Morris大鼠肝癌组织中发现了一种新的钙结合蛋白,接着先后在带瘤动物的血液以及人和大鼠胎盘中发现,并得到其胎盘纯品。由于其表达于肿瘤组织且具有钙调能力,故称之为癌钙蛋白或癌调蛋白(oncomodulin, OncoM, OCM)。目前已知OCM在人类的多种肿瘤组织中存在,其中包括膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、结肠癌、肝癌、皮肤癌和舌癌等,阳性率约为85%。经分析证实,不同来源得到的OCM是相同的蛋白质。OCM可作为一种较理想的肿瘤标志物,经放射性碘标记后可供放射免疫测定。人体内OCM含量的检测有助于诊断肝、肺等肿瘤的发生以及OCM在肿瘤生长中确切机制的研究。作为一种特殊的钙调蛋白,OCM一直被认为只在肿瘤的发生、生长中有着一定的调节功能。然而,2006年Yin等^[2]在Nature Neuroscience上报道称,OCM对视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)的轴突再生有重要作用,自此拉开了OCM在神经科学领域研究的序幕。本文就目前OCM在视神经损伤修复中的作用及研究进展作一综述。

1 OCM的理化特性及分子结构

OCM是一种热稳定的酸性小分子钙结合蛋白,等电点为3.9,于80℃水浴中加热5min仍可保持其活性。人OCM的编码基因最早由Gillen等从cDNA库中克隆获得,定位于7p1-p13染色体,其编码的OCM是由108个氨基酸组成单链多肽,在SDS-PAGE电泳中仅出现一条带。经氨基酸序列分析,108个氨基酸的组成中无色氨酸,而苯丙氨酸/酪氨酸比率较高,且酪氨酸仅有一个。小鼠OCM基因约长9kb,往往与内源性池内A颗粒基因(intracisternal A particle, IAP)整合表达。OCM在脊椎动物进化过程中高度保守,在N端拥有40个碱基残端,不能与钙离子结合。而和其它钙调蛋白一样,OCM拥有一个70个残基的EF手形模体结构(图1),一个位点对钙离子和镁离子的亲和力相对较低,另一个则为高亲和力的钙离子结合位点。由于结构上与微白蛋白(parvalbumin)极其相似,所以OCM也称为β-微白蛋白(beta-parvalbumin)。Thalman等^[3]证明,OCM与哺乳动物听觉感受器组织提取液中的一种酸性钙结合蛋白(calcium binding protein 15, CBP-15)为同一种物质,而之后Sakaguchi等^[4]报道OCM只由螺旋器的外毛细胞表达。

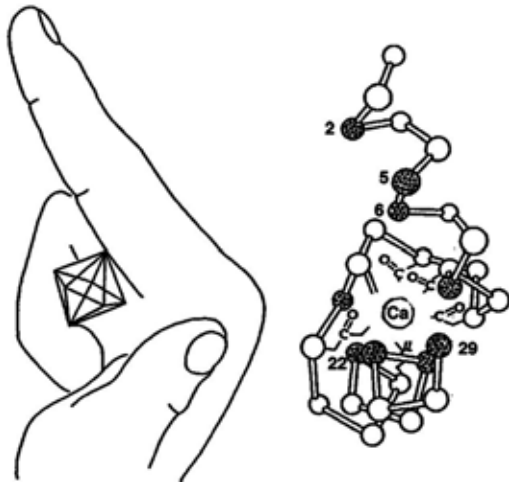


图1 钙蛋白的EF手形模体结构。

2 OCM 在视神经损伤修复中的作用

2.1 研究背景 视神经通路一直被认为是成熟中枢神经系统中损伤不能再生的经典模型。视神经发生损伤时,RGCs 出现未完全发育的末端抽芽且不再生长;而当眼部周围受损伤时,RGCs 很快发生凋亡。以往的研究表明,一些 RGCs 可以通过周围神经移植甚至在上丘脑形成突触来使神经元轴突再生。然而,这一过程通过视神经自身是很难实现的。保持 RGCs 存活的方法有很多^[5-7],在成年动物体内,抗凋亡基因的异位表达可以使大多数的 RGCs 免于凋亡,却不能使神经元轴突再生形成视神经;而细胞内 cAMP 增强因子、半胱天冬酶抑制剂、营养因子等,以及对髓磷脂和神经胶质瘢痕相关抑制信号的中和,都不能导致广泛的视神经再生^[8,9]。

目前最好的视神经再生途径是通过眼部巨噬细胞的活化来完成的,巨噬细胞分泌的蛋白质可以提高玻璃体中甘露醇含量以及细胞内 cAMP 含量,使 RGCs 表达外生长及存活相关基因,同时中和髓磷脂和神经胶质瘢痕相关抑制信号,从而增强神经元轴突的再生^[10]。然而,巨噬细胞刺激神经元轴突再生的信号机制仍然不清楚。

2.2 OCM 的视神经损伤修复作用 2006年 Yin 等^[2]在 Nature Neuroscience 上最先报道 OCM 是中枢和周围神经系统中一种新的神经元生长因子,并阐述了其在视神经损伤修复中的作用。该研究首先用质谱分析法在巨噬细胞分泌蛋白中测定出一段 OCM 的肽链,从而证明 OCM 源于活化的巨噬细胞,存在于损伤的视神经中。甘露糖和福斯高林可以刺激细胞培养株中 RGCs 轴突生长,在加入 3d 之后观察到大多数轴突长 30 ~ 70mm,也有些长 70 ~ 140mm,甚至 140mm 以上。而同时加入 OCM 后几乎可以使其最大长度翻一倍,OCM 的半数最大反应浓度(EC₅₀)为 3.8nmol/L,与此同时,OCM 与睫状神经细胞营养因子(CNTF)、脑源性神经营养因子(BDNF)以及胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)等的 RGCs 生长刺激效应进行比较,在甘露糖与福斯高林缺乏的情况下,各种因子均无法刺激向外生长;而在二者存在的情况下,BDNF 和 GDNF 仍然没有作用,而 CNTF 虽然可以刺激轴突生长,但远没有 OCM 的效应范围广。若将 OCM 从巨噬细胞条件培养

基(macrophage-conditioned media, MCM)中去除,则该培养基中的轴突基本上失去了生长活性。小鼠体内实验也证明,中心体释放的 OCM 促进了视神经的再生。此外,神经节内注射 OCM 大大地增强了背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)感觉神经元的轴突再生能力,表明 OCM 在外周神经损伤中也具有一定的修复能力。在此研究基础之上,Yin 等^[11]进一步实验结果表明,眼球内炎症可以引起固有免疫系统中浸润性细胞分泌高水平的 OCM;而阻碍 OCM 与其受体结合的因子也抑制了神经元轴突再生。不同的细胞株、不同标本及不同的实验模型均得到上述同一结果,提示 OCM 是联系体内固有免疫系统及神经元间有效的生长促进因子。Charalambous 等^[12]研究表明,鸡的神经管源性干细胞(neural tube-derived stem cells, NTSCs)的移入影响小鼠视神经轴突再生的方向,而在此过程中 NTSCs 源性的 OCM 发挥一定作用。

然而 Hauk 等^[13]的研究结果恰恰相反,向之前的 OCM 对视神经损伤有修复作用的观点提出了严峻的挑战。他们的研究表明,OCM 不由原始巨噬细胞产生和表达,在晶状体损伤或酵母聚糖治疗的情况下,眼球内 OCM 的水平也不升高。此外,大量减少巨噬细胞向内眼的侵蚀,并不会减弱晶状体损伤所引起的神经保护作用,视神经的轴突再生也依然在增长,而这种轴突再生可能与视网膜星形胶质细胞及 Müller 细胞的活化有关。总而言之,该实验结果表明 OCM 并不能调节眼球内炎症及损伤修复,而根本的机制也并不依赖于巨噬细胞的活化。

2.3 OCM 在视神经损伤修复中的调节 研究表明,通过 Trk 受体或 gp130 的信号阻塞因子并不能抑制玻璃体内活化巨噬细胞的前再生作用^[14]。因此,由 Trk 受体介导的神经营养因子如 MEK-1,MEK-2,MEK-5 以及 PI3 激酶等,在 OCM 介导的信号通路中均没有作用。此外,CNTF 家族成员下调 Jak-1, Jak-2 或 Jak-3 时,OCM 的活性也并没有减弱。而相反地,作为钙离子/钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II (CaMKII)抑制剂的 KN93,可以不通过改变甘露糖和福斯高林的作用来降低 OCM 的活性,而与 KN93 同型却无活性的 KN92 则不能减少向外生长^[12]。因此认为, CaMKII 参与了 OCM 在视神经损伤修复中的调节。玻璃体内巨噬细胞的活化可以改变 RGCs 轴突向外生长相关基因的表达,在此过程中,转录抑制因子放线菌素 D(ActD)可以抑制 OCM 的作用却不影响 RGC 的生长,表明 OCM 介导了一个转录的级联反应。营养因子通过增加 cAMP 的浓度来克服髓磷脂的抑制作用^[15],OCM 对 RGCs 的作用也要求有高浓度的 cAMP。dB-cAMP 在 250mmol/L 浓度时可以增强 OCM 的效应,而浓度继续增加时表现出向外生长的减少,表明 cAMP 对 OCM 的调节作用存在一个临界浓度。Müller 等^[16]研究发现,巨噬细胞活化及 OCM 并不能完全独立地在眼球内炎症中发挥作用,晶状体损伤及酵母聚糖的使用可以使视网膜星形胶质细胞 CNTF 表达上调,CNTF 进而活化 RGCs 中的转录因子 STAT3 (signal transducers and activators of transcription 3)。CNTF 在视网膜胶质细胞中的水平以及 RGCs 中 STAT3 的活化,与 RGCs 转向再生状态的时程有关系,从而表明星形胶质细

胞源性的 CNTF 也是晶状体损伤后神经保护及轴突再生中的重要因子,其与 OCM 共同发挥作用。

3 问题与展望

COM 虽然很早就被发现,但作为神经科学领域的新兴分子,其在神经生物学中的研究还处于刚起步的阶段,有一系列的问题有待进一步研究。首先,在 OCM 对 RGCs 的作用中,RGCs 表达巨噬细胞源性信号受体的原因和机制尚不完全清楚;其次,除巨噬细胞外,有否其他生理来源的 OCM 作用于 RGCs 还不得而知;再次,OCM 对神经系统以外细胞间信号传递的作用并不明确;最后,作为癌调蛋白的一种,OCM 在肿瘤生长中的调节作用与神经修复作用之间的关系也有待进一步研究。目前,对 OCM 的研究只限于视神经,而最新研究表明^[17],敲除小鼠的微白蛋白基因,其间脑核周体及轴突中 OCM 水平仍明显上调,提示 OCM 可能在大脑中也有一定的神经生物学效应。相信随着上述问题的进一步解决,神经损伤的治疗将拥有更多的思路和方法,为临床应用提供更加宽阔的视野。

参考文献

- 1 MacManus JP. Occurrence of a low-molecular-weight calcium-binding protein in neoplastic liver. *Cancer Res* 1979;39(8):3000-3005
- 2 Yin Y, Henzl MT, Lorber B, et al. Oncomodulin is a macrophage-derived signal for axon regeneration in retinal ganglion cells. *Nat Neurosci* 2006;9(6):843-852
- 3 Thalmann I, Shibasaki O, Comegys TH, et al. Detection of a beta-parvalbumin isoform in the mammalian inner ear. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;215(1):142-147
- 4 Sakaguchi N, Henzl MT, Thalmann I, et al. Oncomodulin is expressed exclusively by outer hair cells in the organ of Corti. *J Histochem Cytochem* 1998;46(1):29-40
- 5 Monsul NT, Geisendorfer AR, Han PJ, et al. Intraocular injection of dibutyryl cyclic AMP promotes axon regeneration in rat optic nerve. *Exp Neurol* 2004;186(2):124-133
- 6 Pernet V, Di Polo A. Synergistic action of brain-derived neurotrophic factor and lens injury promotes retinal ganglion cell survival, but leads to

- optic nerve dystrophy *in vivo*. *Brain* 2006;129(Pt4):1014-1026
- 7 Cheng L, Sapieha P, Kittlerova P, et al. TrkB gene transfer protects retinal ganglion cells from axotomy-induced death *in vivo*. *J Neurosci* 2002;22(10):3977-3986
 - 8 Fischer D, Petkova V, Thanos S, et al. Switching mature retinal ganglion cells to a robust growth state *in vivo*: gene expression and synergy with RhoA inactivation. *J Neurosci* 2004;24(40):8726-8740
 - 9 Koprivica V, Cho KS, Park JB, et al. EGFR activation mediates inhibition of axon regeneration by myelin and chondroitin sulfate proteoglycans. *Science* 2005;310(5745):106-110
 - 10 Yin Y, Cui Q, Li Y, et al. Macrophage-derived factors stimulate optic nerve regeneration. *J Neurosci* 2003;23(6):2284-2293
 - 11 Yin Y, Cui Q, Gilbert HY, et al. Oncomodulin links inflammation to optic nerve regeneration. *PNAS* 2009;106(46):19587-19592
 - 12 Charalambous P, Hurst LA, Thanos S. Engrafted chicken neural tube-derived stem cells support the innate propensity for axonal regeneration within the rat optic nerve. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(8):3513-3524
 - 13 Hauk TG, Muller A, Lee J, et al. Neuroprotective and axon growth promoting effects of intraocular inflammation do not depend on oncomodulin or the presence of large numbers of activated macrophages. *Exp Neurol* 2008;209(2):469-482
 - 14 Lorber B, Berry M, Logan A, et al. Effect of lens lesion on neurite outgrowth of retinal ganglion cells *in vitro*. *Mol Cell Neurosci* 2002;21(2):301-311
 - 15 Cai D, Shen Y, De Bellard M, et al. Prior exposure to neurotrophins blocks inhibition of axonal regeneration by MAG and myelin via a cAMP-dependent mechanism. *Neuron* 1999;22(1):89-101
 - 16 Müller A, Hauk TG, Fischer D. Astrocyte-derived CNTF switches mature RGCs to a regenerative state following inflammatory stimulation. *Brain* 2007;130(Pt12):3308-3320
 - 17 Csillik B, Schwaller B, Mihaly A, et al. Upregulated expression of oncomodulin, the beta isoform of parvalbumin, in perikarya and axons in the diencephalon of parvalbumin knockout mice. *Neuroscience* 2010;165(3):749-757