

HA/CD44 在神经胶质细胞和视交叉神经中的表达及意义

刘明山^{1,2}, 莫亚^{1,2}, 古佩¹, 何沐霖¹

引用:刘明山,莫亚,古佩,等. HA/CD44 在神经胶质细胞和视交叉神经中的表达及意义.国际眼科杂志 2019;19(3):398-401

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81674031)

作者单位:¹(610072)中国四川省成都市,成都中医药大学眼科学院;²(610075)中国四川省成都市,成都中医药大学附属医院眼科

作者简介:刘明山,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治眼病的基础与临床研究。

通讯作者:莫亚,博士,主任医师,博士研究生导师,研究方向:高度近视视功能保护及青少年近视防控.myydcg@163.com

收稿日期:2018-09-13 修回日期:2019-01-21

摘要

透明质酸(hyaluronic acid, HA)是细胞外间质(extracellular matrix, ECM)的主要成分之一。参与组织重建、扩增细胞间隙、炎症反应和肿瘤发生等许多细胞生理、病理过程。粘附分子CD44是HA的细胞表面受体,是一类分布极为广泛的细胞表面糖蛋白,它参与细胞-细胞之间以及细胞-基质之间的特异性粘连。CD44是细胞表面最重要的透明质酸受体,是与HA结合的主要部位。本文就HA与CD44结合及其分子基础;HA/CD44在神经胶质细胞(包括Müller细胞)中的表达及意义以及HA/CD44在视交叉神经中的表达及意义三个方面进行阐述,总结HA/CD44在神经胶质细胞和视交叉神经中的表达及意义。

关键词:透明质酸;CD44;Müller细胞;神经胶质细胞;视交叉神经

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.3.11

Expression and significance of HA/CD44 in glial cells and optic cross nerves

Ming-Shan Liu^{1,2}, Ya Mo^{1,2}, Pei Gu¹, Mu-Lin He¹

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.81674031)

¹School of Ophthalmology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China;

²Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ya Mo. School of Ophthalmology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China; Department of Ophthalmology, the

Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province, China. myydcg@163.com

Received:2018-09-13 Accepted:2019-01-21

Abstract

• Hyaluronic acid (HA) is one of the main components of the extracellular matrix (ECM), and it is participated in many cells physiology and pathological processes, such as tissue reconstruction, expansion of cell gap, inflammation and tumorigenesis and so on. CD44 is a cell surface receptor for HA and widely distributed cell surface glycoprotein, which participate in specific adhesion of cell to cell and cell to matrix. CD44 is the most important hyaluronic acid receptor on the cell surface. Besides, CD44 is the main site of binding to HA. In this paper, we will elaborate from three aspects: the binding of HA and CD44 and its molecular basis, the expression and significance of HA/CD44 in glial cells (including Müller cells) and the expression and significance of HA/CD44 in the optic nerve, which makes readers have an understanding of the role of HA and CD44.

• KEYWORDS: hyaluronic acid; CD44; Müller cells; glial cells; optic nerves

Citation: Liu MS, Mo Y, Gu P, et al. Expression and significance of HA/CD44 in glial cells and optic cross nerves. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(3):398-401

0 引言

透明质酸(hyaluronic acid, HA)广泛存在于细胞外间质,CD44是一类跨膜糖蛋白,是细胞表面最重要的透明质酸受体。透明质酸与透明质酸受体RHAMM和CD44以及其他透明质酸结合蛋白包括hyaladherins和蛋白多糖相互作用,调节细胞的多种生物行为,包括细胞粘附、迁移、增殖和分化以及创伤愈合等^[1]。HA在神经系统中的生物活性主要由跨膜受体介导,包括TLR2,TLR4,CD44和RHAMM^[2]。在这些受体中,CD44在中枢神经系统(central nervous system,CNS)中被广泛表达。视网膜是脑的衍生物,属于中枢神经系统的一部分,神经胶质细胞是广泛分布于中枢神经系统内除了神经元以外的所有细胞。视网膜来源于神经外胚层,视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)位于视网膜最内层-神经节细胞层,是视网膜内唯一向脑内投射的一类神经元,RGCs轴突在离开眼球之后大部分进入间脑腹侧,形成视交叉。研究证实HA/CD44在Müller细胞在内的神经胶质细胞和视交叉

神经中均有表达,本文就有关 HA 及其受体 CD44 在包括 Müller 细胞在内的神经胶质细胞和视交叉神经中的表达及意义的研究进展作一概述。

1 CD44 与 HA 结合及其分子基础

CD44 是最主要的一种细胞表面透明质酸受体^[3], CD44 与 HA 非共价结合,结合部位可以延伸至数个重复二糖单位。CD44 与 HA 结合有三种方式:(1)CD44 分子的细胞外部分携带的 N-糖基化部位与 HA 结合;(2)修饰后的 N-糖基化部位与 HA 结合;(3)在体外,CD44 蛋白胞浆部分的末端与 HA 结合。

CD44 与 HA 结合的特性由 CD44 异构体的特性及表达 CD44 的细胞性质决定。CD44 可处于三种不同激活状态^[4]:(1)灭活态,CD44 不能结合 HA;(2)可诱导激活态,在特异的抗 CD44 单抗或者激活剂的诱导下,CD44 被激活,能够与 HA 结合,如大多数静止的 T 细胞;(3)组成性激活态,不需要任何激活剂,CD44 就处于激活态,可以与 HA 结合。CD44 所处的激活状态可能由其自身基因转录后修饰所决定,特别是糖基化修饰。每一个 CD44 异构体在靠近其 N 末端处均含有一个连接组件(link module),连接组件约由 100 个氨基酸残基组成^[5-6]。

CD44 与 HA 的结合发生在细胞表面,CD44 对应于其 HA 分子上的单个 CD44-HA 结合结构域的亲和力非常低,但是在细胞表面存在着众多紧密排列的 CD44 受体分子,与 HA 的高度重复的二糖单元结构结合。因此 HA 分子与 CD44 在细胞表面结合时,包含了众多低亲和力的受体-配体的相互作用^[7]。这也是细胞表面粘附受体-配体相互作用的一大共性,但对于 CD44 来说更重要,因为其配体 HA 具有高度的重复特性。

2 HA/CD44 在包括 Müller 细胞在内的神经胶质细胞中的表达及意义

2.1 HA/CD44 在神经胶质细胞中的表达及意义

神经胶质细胞是广泛分布于中枢神经系统内除了神经元以外的所有细胞,周围神经系统中的施旺细胞和卫星细胞,中枢神经系统中的星形胶质细胞、少突胶质细胞和小胶质细胞都是神经胶质细胞中常见的重要种类。有研究最初报道了 CD44 的表达主要发生在人脑的白质(白质是中枢神经系统中主要的三个组成元素之一)中。之后的研究表明 CD44 蛋白的来源是神经胶质细胞,特别是星形胶质细胞^[8-12]。Gorlewicz 等^[13]也证明 CD44 在中枢神经系统和外周神经系统中主要通过神经胶质细胞表达。有学者使用来自人胎儿和成人脑的原代细胞培养物的体外研究证明了 CD44 在星形胶质细胞和少突胶质细胞中的表达^[14-15]。随后其对发育中大脑的分析已经将 CD44 定义为星形胶质细胞的限制性前体细胞(astrocyte-restricted precursor, ARP)的标记物,ARP 被专门用于在啮齿动物和人体组织的体外和体内产生星形胶质细胞^[16]。其他的研究表明,在小鼠小脑中,CD44 表达不仅可以在星形胶质前体细胞(可分化为星形胶质细胞)中发现,也可以在出生后早期的神经干细胞(具有分化为神经神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞的潜能)和少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cells, OPCs,可分化为少突胶质细胞)中发现^[17]。尽管已经描述了星形胶质细胞中 CD44 的表达,但是对这些细胞中 HA 及其受体相互作用的功能

知之甚少。Konopka 等^[18]证实,HA 通过与 CD44 结合可抑制星形胶质细胞的增殖和星形胶质细胞突起的形成。已经证明 HA/CD44 与 Rac1 依赖性 PKN γ (protein kinase N- γ)激酶活化相互作用,促进皮层肌动蛋白的磷酸化及皮层肌动蛋白介导的细胞骨架功能,导致星形胶质细胞迁移^[19]。同样,在神经前体细胞(是神经干细胞的一种,为各类神经细胞的前体细胞)中,CD44 蛋白的过表达增强了这些细胞的体外和体内跨内皮迁移^[20]。此外,OPCs 中的 CD44 过表达抑制其向少突胶质细胞的分化,促进其向星形胶质细胞的分化^[21]。

2.2 HA/CD44 在 Müller 细胞中的表达及意义

Müller 细胞(Müller glia)又称放射状胶质细胞,是脊椎动物视网膜中特有的星形胶质细胞,在脊椎动物视网膜中,占细胞总数 90% 以上,其细胞核位于内核层,呈双极性,向内、外侧发出放射状突起,分布于视网膜全层,具有结构支持、维持渗透压稳定、参与神经元营养运输和代谢、调节血-视网膜屏障等重要作用^[22]。在病理情况下,Müller 细胞一方面介导视网膜神经元损伤的信号传递,另一方面保护视网膜神经元,在某些动物甚至去分化,具有干细胞性质,部分替代损伤的视网膜神经元^[23-24]。以往的研究已经证实了 Müller 细胞中有 HA 及 CD44 的表达,Azuma 等^[25]研究发现,Müller 细胞是妊娠 12wk 到新生儿期暂时产生 HA 的部位之一。Müller 细胞在建立视网膜极性结构和视网膜正确分层中发挥着决定性的作用^[26],并且 Müller 细胞能诱导视网膜前体细胞向视网膜神经节细胞分化^[27]。在活体视网膜上,Müller 细胞是唯一表达 CD44 的细胞^[28]。陆融等^[29]推测透明质酸可能是通过作用于 Müller 细胞表面受体 CD44 激活相应的细胞内信息通路,加强 Müller 细胞降解透明质酸的功能。Shinoe 等^[30]研究发现,CD44 的异位表达扰乱了神经元的形成过程,CD44 的强制表达扰乱了 Müller 神经胶质细胞的形成过程,这表明 CD44 的适当表达对 Müller 神经胶质的形态成熟至关重要。即便如此,CD44 在视网膜中的神经胶质细胞系的瞬时表达的作用仍不清楚,这还需要进一步的研究来证实。但近年来有关 CD44 与视网膜的关系已经引起重视,认为 CD44 与增生性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreoretinopathy, PVR)、视网膜的变性疾病(pigmentary degeneration of the retina, PRD)、脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)、视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)等有关。

3 HA/CD44 在视交叉神经中的表达及意义

视觉信息在眼与大脑之间传递的途径由视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)发出的轴突组成,这些连接的建立是在发育期完成的。RGCs 轴突在离开眼球之后进入正在发育的视柄中并向大脑生长,即大部分进入间脑腹侧面。在这里来自两眼的轴突互相交叉形成特殊的 X 型,形成视交叉。RGCs 的轴突集中于视乳头,穿出巩膜成为视神经(视神经是中枢神经系统的一部分)。Ma 等^[31]发现 CD44 存在于鼠胚胎时期的视交叉神经中。Lin 等^[32]发现,当视网膜轴突到达小鼠腹侧间脑时,HA 大量定位于视交叉神经元,并且在视交叉中线与其受体 CD44 共定位。已经证明这些神经元通过在视交叉中线处对视神经轴突提供导向因子来影响轴突生长^[33]。CD44 已被

证明是这些因子中的一种,并且对小鼠视网膜节细胞轴突的延伸具有抑制作用。在小鼠视神经通路的脑切片培养中,使用阻断抗体扰乱 CD44 功能可以显著减少视交叉中线处先产生的交叉轴突和非交叉路径的形成^[34],这证明了视交叉轴突路径的重要作用。目前尚不清楚这些过程是否涉及 HA 与 CD44 的结合。基于 HA 是 CD44 及其生物活性的主要配体这一事实^[35],并且 HA 与 CD44 在视交叉中线处共定位,这就有理由认为 HA 很可能涉及 CD44 在小鼠视交叉中线介导的轴突导向,说明其与调节视网膜轴突神经的发育有一定关系,也有可能参与视网膜神经层的发育过程。体外研究表明 CD44 对胚胎视网膜轴突生长具有抑制作用^[36],而使用特异性抗 CD44 阻断抗体的实验表明,在小鼠视交叉中,交叉神经元中的功能性 CD44 分子对于轴突发散和轴突分化是必不可少的^[34]。此外,CD44 可能参与在层粘连蛋白底物上生长的视网膜节细胞的轴突的延伸^[36]。尽管目前 CD44 在人视网膜发育过程中的具体作用和机制尚不清楚,但是多数专家认为 CD44 参与调节视网膜的分化和视网膜组织形态发展的过程。

总体而言,CD44 作为 HA 的受体,和 HA 在许多生理和病理过程中发挥关键作用,如神经元发育,突触可塑性以及对损伤、神经变性和脑肿瘤侵袭反应^[37-38]。尽管有证据表明 CD44 可能参与神经元发育过程中的轴突导向,但透明质酸受体,特别是 CD44 在神经系统中的神经元功能仍有待阐明,Matzke 等^[39]已经证明,CD44 敲除小鼠中的谷氨酸能突触激发迅速减少,而在脑干内的甘氨酸能和 GABA 能突触抑制或前包钦格复合神经元的整体突触活动中未检测到变化。Roszkowska 等^[40]认为 CD44 似乎是一种调节树突棘功能和结构可塑性新型分子的参与者。上述观察结果似乎可以表明 CD44 在突触传递中的潜在作用,但这需要更多深入的研究。

4 展望

综上所述,HA 与 CD44 可能在包括 Müller 细胞在内的神经胶质细胞和视交叉神经中发挥着重要作用。近年来关于粘附因子 CD44 在眼科的研究也逐渐增多,如眼睑鳞状细胞癌、乳头状瘤、葡萄膜恶性黑色素瘤、结膜恶性黑色素瘤、青光眼、白内障、翼状胬肉等。然而 CD44 在神经胶质细胞和视交叉神经中发挥作用的具体机制尚未明确。因此,对 CD44 的进一步研究和探讨,可以为神经胶质细胞和视交叉神经的发育和相关疾病的病因研究、发病机制和治疗提供一个新的方向。

参考文献

- 1 Nam K, Oh S, Lee KM, et al. CD44 regulates cell proliferation, migration, and invasion via modulation of c-Src transcription in human breast cancer cells. *Cell Signal* 2015; 27(9):1882-1894
- 2 García - Posadas L, Contreras - Ruiz L, López - García A, et al. Hyaluronan receptors in the human ocular surface: a descriptive and comparative study of RHAMM and CD44 in tissues, cell lines and freshly collected samples. *Histochem Cell Biol* 2012;137(2):165-176
- 3 Misra S, Hascall VC, Markwald RR, et al. Interactions between Hyaluronan and Its Receptors (CD44, RHAMM) Regulate the Activities of Inflammation and Cancer. *Front Immunol* 2015;6:201
- 4 Lesley J, English N, Charles C, et al. The role of the CD44 cytoplasmic and transmembrane domains in constitutive and inducible hyaluronan binding. *Eur J Immunol* 2015;30(1):245-253

- 5 Yoshino Y, Ishisaka M, Tsuruma K, et al. Distribution and function of hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization (HYBID, KIAA1199) in the mouse central nervous system. *Neuroscience* 2017; 347:1-10
- 6 Perschl A, Lesley J, English N, et al. Role of CD44 cytoplasmic domain in hyaluronan binding. *Eur J Immunol* 2010; 25(2):495-501
- 7 Baggio C, Barile E, Sorbo GD, et al. The Cell Surface Receptor CD44: NMR - Based Characterization of Putative Ligands. *Chem Med Chem* 2016; 11(10):1097-1106
- 8 McKenzie JL, Dalchau R, Fabre JW. Biochemical characterisation and localization in brain of a human brain-leucocyte membrane glycoprotein recognised by a monoclonal antibody. *J Neurochem* 1982; 39(5):1461-1466
- 9 Bignami A, Dahl D. Brain-specific hyaluronate-binding protein. A product of white matter astrocytes. *J Neurocytol* 1986;15(5):671-679
- 10 Cruz TF, Quackenbush EJ, Letarte M, et al. Elevated levels of a glycoprotein antigen (P-80) in gray and white matter of brain from victims of multiple sclerosis. *Neurochem Res* 1986;11(6):877-889
- 11 Girgah N, Letarte M, Becker LE, et al. Localization of the CD44 glycoprotein to fibrous astrocytes in normal white matter and to reactive astrocytes in active lesions in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1991;50(6):779-792
- 12 Vogel H, Butcher EC, Picker LJ. H-CAM expression in the human nervous system; evidence for a role in diverse glial interactions. *J Neurocytol* 1992;21(5):363-373
- 13 Gorlewicz A, Wlodarczyk J, Wilczek E, et al. CD44 is expressed in non-myelinating Schwann cells of the adult rat, and may play a role in neurodegeneration-induced glial plasticity at the neuromuscular junction. *Neurobiol Dis* 2009;34(2):245-258
- 14 Moretto G, Xu RY, Kim SU. CD44 expression in human astrocytes and oligodendrocytes in culture. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993; 52(4):419-423
- 15 Hagel C, Stavrou DK. CD44 expression in primary and recurrent oligodendrogliomas and in adjacent gliotic brain tissue. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2010;25(4):313-318
- 16 Liu Y, Han SS, Wu Y, et al. CD44 expression identifies astrocyte-restricted precursor cells. *Dev Biol* 2004; 276(1):31-46
- 17 Naruse M, Shibasaki K, Yokoyama S, et al. Dynamic changes of cd44 expression from progenitors to subpopulations of astrocytes and neurons in developing cerebellum. *PLoS One* 2013; 8(1):e53109
- 18 Konopka A, Zeug A, Skupien A, et al. Cleavage of Hyaluronan and CD44 Adhesion Molecule Regulate Astrocyte Morphology via Rac1 Signalling. *PLoS One* 2016; 11(5):e0155053
- 19 Bourguignon LY, Gilad E, Peyrollier K. Hyaluronan - CD44 interaction stimulates Rac1 signaling and PKN gamma kinase activation leading to cytoskeleton function and cell migration in astrocytes. *J Neurochemistry* 2010;101(4):1002-1017
- 20 Deboux C, Ladraa S, Cazaubon S, et al. Overexpression of CD44 in Neural Precursor Cells Improves Trans - Endothelial Migration and Facilitates Their Invasion of Perivascular Tissues in Vivo. *PLoS One* 2013; 8(2):e57430
- 21 Bugiani M, Postma N, Polder E, et al. Hyaluronan accumulation and arrested oligodendrocyte progenitor maturation in Vanishing White Matter disease. *Brain* 2013; 136(1):209-222
- 22 Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, et al. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res* 2006;25(4):397-424
- 23 Fischer AJ, Reh TA. Müller glia are a potential source of neural regeneration in the postnatal chicken retina. *Nat Neurosci* 2001;4(3):247-252
- 24 Fischer AJ, McGuire CR, Dierks BD, et al. Insulin and fibroblast

- growth factor 2 activate a neurogenic program in Müller glia of the chicken retina. *J Neurosci* 2002;22(21):9387-9398
- 25 Azuma N, Hida T, Akiya S, *et al.* Histochemical studies on hyaluronic acid in the developing human retina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1990; 228(2):158-160
- 26 Reichenbach A, Bringmann A. New functions of Muller cells. *Glia* 2013; 61(5):651-678
- 27 姚静,孙兴怀. Müller 细胞诱导视网膜前体细胞向视网膜神经节细胞分化. *复旦学报(医学版)*2006;33(5):675-679
- 28 Chaitin MH, Wortham HS, Brunzinkernagel AM. Immunocytochemical localization of CD44 in the mouse retina. *Exp Eye Res* 1994; 58(3):359-365
- 29 陆融,乔伟振,赵伟.视网膜 Müller 细胞透明质酸酶功能分析. *眼科新进展* 2011;31(6):538-540
- 30 Shinoe T, Kuribayashi H, Saya H, *et al.* Identification of CD44 as a cell surface marker for Müller glia precursor cells. *J Neurochem* 2010;115(6):1633-1642
- 31 Ma HM, Zhang XM, Fu XB, *et al.* Promotion of proliferation and migration of Müller cells by RPE cells in a co-culturesystem. *Int J Ophthalmol* 2009;3(2):257-260
- 32 Lin L, Wang J, Chan CK, *et al.* Localization of hyaluronan in the optic pathway of mouse embryos. *Neuroreport* 2007; 18(4):355-358
- 33 Pinter R, Hindges R. Perturbations of microRNA function in mouse *dicer* mutants produce retinal defects and lead to aberrant axon pathfinding at the Optic Chiasm. *PLoS One* 2010;5(4):e10021
- 34 Lin L, Chan S. Perturbation of CD44 function affects chiasmatic routing of retinal axons in brain slice preparations of the mouse retinofugal pathway. *Eur J Neuroscience* 2015; 17(11):2299-2312
- 35 Ferrari LF, Araldi D, Bogen O, *et al.* Extracellular Matrix Hyaluronan Signals Via its CD44 Receptor in the Increased Responsiveness to Mechanical Stimulation. *Neuroscience* 2016; 324:390-398
- 36 Ries A, Goldberg JL, Grimpe B. A novel biological function for CD44 in axon growth of retinal ganglion cells identified by a bioinformatics approach. *J Neurochem* 2007;103(4):1491-1505
- 37 Kochlamazashvili G, Henneberger C, Bukalo O, *et al.* The extracellular matrix molecule hyaluronic acid regulates hippocampal synaptic plasticity by modulating postsynaptic L-type Ca(2+) channels. *Neuron* 2010;67(1):116-128
- 38 Włodarczyk J, Mukhina I, Kaczmarek L, *et al.* Extracellular matrix molecules, their receptors, and secreted proteases in synaptic plasticity. *Dev Neurobiol* 2011; 71(11):1040-1053
- 39 Matzke A, Sargsyan V, Holtmann B, *et al.* Haploinsufficiency of *c-met* in *cd44(-/-)* mice identifies a collaboration of CD44 and *c-met* *in vivo*. *Mol Cell Biol* 2007; 27(24):8797-8806
- 40 Roszkowska M, Skupien A, Wójtowicz T, *et al.* CD44 - a novel synaptic cell adhesion molecule regulating structural and functional plasticity of dendritic spines. *Mol Biol Cell* 2016; 27(25):4055-4066