

- [27] Martellucci J, Scheiterle M, Lorenzi B, et al. Accuracy of transrectal ultrasound after preoperative radiochemotherapy compared to computed tomography and magnetic resonance in locally advanced rectal cancer [J]. International journal of colorectal disease, 2012, 27(7): 967-973
- [28] Gavioli M, Bagni A, Piccagli I, et al. Usefulness of endorectal ultrasound after preoperative radiotherapy in rectal cancer [J]. Diseases of the colon & rectum, 2000, 43(8): 1075-1083
- [29] Giusti S, Buccianti P, Castagna M, et al. Preoperative rectal cancer staging with phased-array MR[J]. Radiat Oncol, 2012, 7: 29
- [30] Mezzi G, Arcidiacono P G, Carrara S, et al. Endoscopic ultrasound and magnetic resonance imaging for re-staging rectal cancer after radiotherapy[J]. World journal of gastroenterology: WJG, 2009, 15(44): 5563
- [31] Kim J C, Cho Y K, Kim S Y, et al. Comparative study of three-dimensional and conventional endorectal ultrasonography used in rectal cancer staging [J]. Surgical Endoscopy And Other Interventional Techniques, 2002, 16(9): 1280-1285
- [32] Nicholls R J, Galloway D J, Mason A Y, et al. Clinical local staging of rectal cancer[J]. British Journal of Surgery, 1985, 72(S1): s51-s52
- [33] Brown E D, Chen M Y M, Wolfman N T, et al. Complications of renal transplantation: evaluation with US and radionuclide imaging[J]. Radiographics, 2000, 20(3): 607-622
- [34] Kim N K, Kim M J, Park J K, et al. Preoperative staging of rectal cancer with MRI: accuracy and clinical usefulness[J]. Annals of surgical oncology, 2000, 7(10): 732-737
- [35] Thaler W, Watzka S, Martin F, et al. Preoperative staging of rectal cancer by endoluminal ultrasound vs. magnetic resonance imaging[J]. Diseases of the colon & rectum, 1994, 37(12): 1189-1193
- [36] Swartling T, Kalebo P, Derwinger K, et al. Stage and size using magnetic resonance imaging and endosonography in neoadjuvantly-treated rectal cancer [J]. World journal of gastroenterology: WJG, 2013, 19(21): 3263
- [37] Klessen C, Rogalla P, Taupitz M. Local staging of rectal cancer: the current role of MRI[J]. European radiology, 2007, 17(2): 379-389
- [38] Baikoussis N G, Apostolakis E, Papakonstantinou N A, et al. Safety of magnetic resonance imaging in patients with implanted cardiac prostheses and metallic cardiovascular electronic devices[J]. The Annals of thoracic surgery, 2011, 91(6): 2006-2011
- [39] Morelli J N, Runge V M, Ai F, et al. An image-based approach to understanding the physics of MR artifacts [J]. Radiographics, 2011, 31(3): 849-866
- [40] Rafaelsen S R, Vagn-Hansen C. Transrectal ultrasound and magnetic resonance imaging measurement of extramural tumor spread in rectal cancer[J]. World journal of gastroenterology: WJG, 2012, 18(36): 5021
- [41] Edelman B R, Weiser M R. Endorectal ultrasound: its role in the diagnosis and treatment of rectal cancer [J]. Clinics in colon and rectal surgery, 2008, 21(3): 167
- [42] Gall T M H, Markar S R, Jackson D, et al. Mini-probe ultrasonography for the staging of colon cancer. A systematic review and meta-analysis[J]. Colorectal Disease, 2013, 43(8): 1318-1323

(上接第 1393 页)

- [18] Eggers R, de Winter F, Hoyng SA, et al. Lentiviral vector-mediated gradients of GDNF in the injured peripheral nerve: Effects on nerve coil formation, schwann cell maturation and myelination[J]. PloS one, 2013, 8(8): e71076
- [19] Alvarez P, Chen X, Bogen O, et al. Ib4(+) nociceptors mediate persistent muscle pain induced by GDNF [J]. Journal of neurophysiology, 2012, 108(9): 2545-2553
- [20] Takasu K, Sakai A, Hanawa H, et al. Overexpression of GDNF in the uninjured drg exerts analgesic effects on neuropathic pain following segmental spinal nerve ligation in mice [J]. The journal of pain: official journal of the American Pain Society, 2011, 12(11): 1130-1139
- [21] Chen B, Gao XQ, Yang CX, et al. Neuroprotective effect of grafting GDNF gene-modified neural stem cells on cerebral ischemia in rats [J]. Brain research, 2009, 1284: 1-11
- [22] Nicole O, Ali C, Docagne F, et al. Neuroprotection mediated by glial cell line-derived neurotrophic factor: Involvement of a reduction of nmda-induced calcium influx by the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience, 2001, 21(9): 3024-3033
- [23] Ulkan K, Ertugrul K, PH DG, et al. Intravenous TAT-GDNF is protective after focal cerebral ischemia in mice [J]. Stroke, 2003, 34: 1304-1310
- [24] Sariola H, Saarma M. Novel functions and signalling pathways for GDNF[J]. Journal of cell science, 2003, 116: 3855-3862
- [25] Mwangi S, Anitha M, Fu H, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor-mediated enteric neuronal survival involves glycogen synthase kinase-3beta phosphorylation and coupling with 14-3-3[J]. Neuroscience, 2006, 143(1): 241-251
- [26] De Vicente JC, Cabo R, Ciriaco E, et al. Impaired dental cytodifferentiation in glial cell-line derived growth factor (GDNF) deficient mice [J]. Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger: official organ of the Anatomische Gesellschaft, 2002, 184(1): 85-92
- [27] Munoz-Bravo JL, Hidalgo-Figueroa M, et al. GDNF is required for neural colonization of the pancreas [J]. Development, 2013, 140: 3669-3679
- [28] Huleihel M, Fadlon E, Abuelhija A, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) induced migration of spermatogonial cells in vitro via mek and nf-kb pathways [J]. Differentiation; research in biological diversity, 2013, 86(1-2): 38-47

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.07.050

胶质源性神经营养因子对不同组织细胞的影响

宋江曼 张卓伯[△] 刘庆安 邢晓滨 卜琳琳

(哈尔滨医科大学附属第四医院神经内科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: GDNF 来自于小胶质神经元,首先作为中脑多巴胺能神经元的复活因子被发现,可促进细胞存活,并有增加多巴胺神经元细胞大小及轴突长度的作用。GDNF 通过与锚定蛋白细胞表面受体糖基磷脂酰肌醇的相互作用来调节细胞活性。GDNF 家族 a-1 受体,通过跨膜酪氨酸受体或者神经元细胞黏附分子,来促进细胞存活,神经突生长,以及突触发育。后续的研究提示,无论未成年还是成体大脑, GDNF 对多种神经细胞都有复活的作用,并与一些周围神经复活、迁移、分化相关。不同的脑缺血实验模型均证实了外源性 GDNF 对于病灶部位及全脑的神经保护作用,包括局部应用营养因子,利用病毒载体运载 GDNF 基因以及移植表达 GDNF 的细胞。近来研究还证实, GDNF 不仅对多巴胺能神经元,中枢和周围神经系统的运动、感觉神经元,以及自主神经元有营养和保护作用,对于非神经系统也有不同调节作用。本文将重点讨论这些 GDNF 作用的不同策略以及机制。

关键词: 胶质源性神经营养因子(GDNF);多巴胺能神经元;运动神经元;感觉神经元;脑缺血

中图分类号: R743 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)07-1390-04

The Influence of GDNF in Different Tissues and Cells

SONG Jiang-man, ZHANG Zhuo-bo[△], LIU Qing-an, XING Xiao-bin, BU Lin-lin

(The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University Department of internal neurology, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) was identified from a glial cell line based on its ability to promote the survival as well as the increase in cell size and neurite length in mesencephalic dopaminergic neurons. Since not sufficient effect was observed, GDNF was originally believed to be a selective survival factor dopaminergic neurons. GDNF regulates cellular activity through interaction with glycosyl-phosphatidylinositol-anchored cell surface receptors, GDNF family receptor-a1, which might signal through the transmembrane Ret tyrosine receptors or the neural cell adhesion molecule, to promote cell survival, neurite outgrowth, and synaptogenesis. However, additional studies showed that GDNF also supports the survival of various neurons, and regulates the survival, migration, and differentiation of several peripheral neurons. The effects of GDNF on neuronal survival were shown both during development and in the adult brain. The neuroprotective effect of exogenous GDNF has been shown in different experimental models of focal and global brain ischemia, by local administration of the trophic factor, using viral vectors carrying the GDNF gene and by transplantation of GDNF-expressing cells. Recent researches demonstrate that GDNF support the effect of nutrition and protection of neurons, including dopaminergic sensory, motor, sympathetic and parasympathetic neurons. GDNF has further critical roles outside the nervous system. These different strategies and the mechanisms of GDNF are discussed in this review.

Key words: GDNF; Dopaminergic Neurons; Motoneurons; Sensory Neurons; Brain ischemic

Chinese Library Classification(CLC): R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)07-1390-04

前言

神经营养因子不仅在大脑发育过程中,而且在维持中枢神经系统和外周神经系统的正常功能以及促进损伤后的再生方面都很重要。大量研究表明,在未成年大脑中,特定的神经营养因子表现出强有力的神经保护作用^[1]。神经营养因子家族包括神经生长因子,脑源性神经营养因子,胶质细胞源性神经营养因子,碱性成纤维细胞生长因子,神经营养因子-3 以及神经营养因子-4/5。而多效能的神经营养因子,在神经元的功能维持和

损伤修复方面强效作用,受到众多学者的关注。

胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF) 是 Lin 等^[2]于 1993 年从大鼠胶质细胞株 B49 中分离获得的一种多巴胺能神经元营养因子,是糖基化的硫化二聚体,分子量为 33-45k 达尔文,其去糖基化单体结构为 16k 达尔文。GDNF 和相关生长因子 neurturin (NRTN)、persephin (PSPN) 及 artemin (ARTN) 属于转化生长因子 B 超家族,虽然序列同源性较低,但因为它们在相关区域包含七个保守的半胱氨酸残基而作为超家族的成员。神经损伤后其靶器官及损伤区域 GDNF 表达增加,提示损伤神经元对 GDNF 的需求增加, GDNF 增加是损伤神经元自我保护的一种形式^[3],因而挖掘 GDNF 治疗神经元损伤及疾病的机制以及潜力,是神经科研究的焦点。

GDNF 是一种多效能神经营养因子,对中枢及周围神经系

作者简介:宋江曼(1987-),女,硕士研究生,

E-mail: songjiangman@163.com

[△]通讯作者:张卓伯(1968-),男,博士后,主任医师,主要研究方向:脑血管病的临床及实验研究, E-mail: zzbzzx@163.com

(收稿日期:2016-03-19 接受日期:2016-04-13)

统不同种类神经元的发育、存活及再生有一定的支持作用。Asha Bakshi 试图通过向侧面液体冲击颅脑损伤的 SD 大鼠移植分泌 GDNF 的 C17.2 神经祖细胞 (NPCs), 肯定了其促进存活、分化, 提高神经功能恢复的作用。提示 GDNF 在外伤后急性期具有生理性作用, 验证了 GDNF 过度表达减少了体外 NPC 细胞的凋亡^[3]。早期研究 GDNF 对 DA 能神经元有特异性营养、支持、保护和损伤修复作用, 能促进体内、外 DA 能神经元的发育, 使神经元胞体增大, 能诱导 DA 能神经元轴突出芽和重建^[4]。随着研究的不断深入, 发现在众多的神经营养因子中, GDNF 可特异性地作用于某一种神经元或广谱作用于多种神经元, 是迄今为止发现作用最强的神经营养因子^[5,6]。近来研究还证实, GDNF 不仅对多巴胺能神经元, 中枢和周围神经系统的运动、感觉神经元, 以及自主神经元有营养和保护作用, 而且可促使神经元再生和免受外界损伤引起的凋亡, 具有促进细胞存活作用^[1,2,7]。

1 GDNF对多巴胺能神经元的支持作用

GDNF 杂合小鼠表现出随着年龄增长运动协调及自发行为减少, 多巴胺能神经元快速丢失^[8], 杂合 GDNF α -1 受体杂合小鼠运动能力下降, 对于多巴胺能毒素 MPTP 敏感性增强^[9]。以上明确说明 GDNF 对于成年纹状体黑质多巴胺能通路是必不可少的。利用 GDNF 杂合鼠的研究证明部分 GDNF 缺失可加重年龄相关的黑质多巴胺系统及运动功能损伤, 增加黑质炎症反应及氧化应激作用。Ofelia M. Littrell 的研究确定了 GDNF 替代能恢复中年 GDNF 杂合鼠黑质多巴胺能系统的运动功能及功能标记, 实验进一步证明了与黑质纹状体通路功能紊乱相关的长期改变受 GDNF 表达及增加的影响^[10]。GDNF 对于多巴胺能神经元的神经保护作用引发学者对帕金森病动物模型应用 GDNF 治疗的研究。

GDNF 对多巴胺神经元有高度亲合力, 对多巴胺能神经元的营养活性已被大量体内外试验所证实。GDNF 在啮齿类及灵长类动物实验中表现出强有效的神经保护作用, 然而其从血液或脑脊液向脑组织渗透受到限制。Nutt JG 运用多中心随机双盲安慰剂对照顺序队列研究, 对 PD 患者进行 8 个月的对照研究, 分别应用不同剂量 GDNF 以及安慰剂。并延长到 20 个月进行开放性研究, 进行实验室化验, 不良反应事件记录, 通过统一帕金森病综合评分量表 UPDRS 进行评分。结果表明任何实验剂量的 GDNF, 开关效应总数及运动 UPDRS 评分无改善。开放性研究也有相似的不良反应, 并且治疗效果不佳^[11]。注入的 GDNF 并未治疗 PD, 有可能是因为在人体 GDNF 到达黑质纹状体目标器官相对于动物有很长距离, GDNF 未达到目标组织 - 壳核和黑质。Gill Steven S 在第一阶段安全试验直接将 GDNF 注入 5 名帕金森病患者的壳核。一年之后, 没有明显副作用, UPDRS 评分改善 39%, 并且在日常生活子项目评分改善 61%。药物所致运动障碍减少 64%。18 个月后进行 PET 扫描发现壳核多巴胺含量增加 28%, 提示了 GDNF 对于多巴胺功能的直接作用^[12]。

HIV-1-TAT 来源的可透过细胞的短肽提供了一种将融合蛋白传递入脑的方法。我们制作了含 11 个氨基酸的可透过细胞短肽 CPP 与成熟 GDNF 蛋白相结合的融合蛋白, 来使

GDNF 顺利通过血脑屏障。Gunnar P.H. Dietz 证实了在脑创伤及缺血模型体内 TAT-GDNF 加强了 GDNF 的神经保护作用, 目前通过 MPTP 作用下制成的 PD 大鼠模型的测试来评估融合蛋白促多巴胺能神经元复活的作用。研究显示融合蛋白确实达到多巴胺能神经元。然而, 在黑质致密部通过免疫组织化学法和酪氨酸羟化酶免疫反应阳性的神经元计数显示, 体内应用 TAT-GDNF 并没有表现出多巴胺能神经元的神经保护作用。有可能, GDNF 保护 MPTP 处理过的黑质纹状体并不是通过增加存活多巴胺能神经元的数量。联合应用 TAT-GDNF 和抗凋亡 TAT 融合蛋白也许更有效^[13]。

2 GDNF对运动神经的支持作用

GDNF 是已知最有效的运动神经存活因子, 同时也促进神经再生^[6]。坐骨神经切割伤及挤压伤后, GDNF mRNA 在损伤部的远侧段迅速上调并伴其受体 GFR α mRNA 上调, 表明其对神经有营养支持作用^[14,15]。这是内源性 GDNF 发挥作用的有力例证。Barras 等在对大鼠面神经切断的动物模型研究中发现, 持续释放 GDNF 数周, 神经长入 8 mm 长的神经断裂缺损沟。在没有神经生长因子的作用下是不会再生到这个长度的, 这些结果表明 GDNF 在促进单纯运动神经面神经再生有重要作用^[16]。与神经营养受体结合的单克隆抗体 MC192, 属于非过滤性病毒基因转运系统, p75 与多聚酪氨酸结合, 通过受体介导系统进行转运基因。利用运动神经元逆向转运机制将 GDNF 编码基因送入中枢神经系统, 对损伤提供营养支持作用。向新生小鼠后肢注射 MC192 多聚酪氨酸 GDNF 复合物, 使基因坐骨神经横断之前表达。损伤 1 周后新生小鼠 GDNF 蛋白的表达挽救了 38% 的目标运动神经, 而对照组低于 12%。在成年小鼠, 向舌下神经横断面海绵明胶注入基因转移复合物。转移基因绕过血脑屏障转运至大脑及脊髓。在脑干及脊髓, GDNF 转移基因的存在及记录持续到 8 周。在成体小鼠, 轴突手术所致神经元死亡几乎全部得到逆转。所以, 这一新的 GDNF 基因转运系统在出生后及成体运动神经元均有显著的作用^[16]。Christina K. Magill 实验测定坐骨神经挤压伤后成年鼠的组织形态学、肌肉强度和力量。2 周时, 肌源性 GDNF 鼠神经纤维数目明显增多, 纤维强度增加, 早期的再生并没有导致高级功能恢复。GDNF 在周围神经系统传递较中枢 GDNF 传递在坐骨神经损伤后重建功能出现较早。神经营养因子处理可能为周围神经损伤的治疗提供新的可能。实验结果提示 GDNF 过度表达可以刺激神经再生, 研究外源性 GDNF 在周围神经传递和将实验应用到大型动物模型中是很有必要的^[17]。而 Terence M Myckatyn 等分析了大鼠坐骨神经挤压损伤后, 轴突逆行转运标记物、组织形态学、电子显微镜和 GDNF 分泌细胞运动轨道的情况, 结果表明, 在运动神经元逆向转运标记的密度, 运动终板神经分布范围, 行走功能恢复时间方面, 外周肌源性 GDNF 转基因组水平明显优于野生对照组和中枢神经源性转基因组。实验结果证实, 神经损伤后 GDNF 加速运动神经恢复是通过更好利用的外周肌源性 GDNF^[16]。

胶质源性神经营养因子已经被证明有促进运动神经元存活及生长的作用, 但是局部提高 GDNF 的水平可导致轴突再生和神经线圈形成紊乱。这一现象被称为 "糖果店 (candy store)"

效应。Ruben Eggers 的实验关于坐骨神经撕脱伤后 GDNF 梯度变化的影响。这一方法研究了在受损周围神经中,施万细胞的增殖以及形态学变化随 GDNF 浓度逐渐增高的变化结果。在神经线圈中,施万细胞密集度增加,形态学紊乱,轴索髓鞘形成受到损害。在末梢应用 GDNF 不能增加再生以及存活运动神经元的总数目,增加的萌芽确实可以导致末端坐骨神经运动神经轴突的增加。这些结果表明,慢病毒转染使 GDNF 高表达可致施万细胞及轴突的多种效应。控制性 GDNF 表达或许可以避免运动神经轴索紊乱并且控制施万细胞增殖以及形态学变化^[18]。

3 GDNF对感觉神经的支持作用

GDNF 在传入神经纤维的顺行传递,在后角表面的强烈表达,提示 GDNF 在成年大鼠脊髓中对疼痛传递起作用。背根神经节(DRGs)的疼痛感觉神经元通常分为两种主要的亚类:一类能与植物的 IB4(isolectin-B4)结合;另外一类表达神经生长因子受体酪氨酸激酶 A(trkA)。

Pedro Alvarez 研究了 GDNF 作为内源性肌肉痛介质的作用。给机械性痛觉过敏的大鼠连续 3 周肌肉注射剂量递增的 GDNF。一旦痛觉过敏好转,给予注射前列腺素 E₂,人为造成机械性痛觉过敏延长(大于 72 小时),设立对照组。结果表明产生的 GDNF 的受体 GFR α 1 可逆的抑制了反常运动及机械振动所致的肌肉痛觉过敏。记录小鼠受神经支配的腓肠肌痛觉感受器电生理变化,在局部注射 GDNF 后对于持续性机械刺激反应阈明显增强。这些数据表明 GDNF 作为内源性介质在急性和慢性肌肉痛中具有重要作用,GDNF 与受体 GFR α 1 结合调节神经痛与 IB4(+)型痛觉感受器相关^[19]。Kumiko Takasu 等应用慢病毒介导 GDNF 过度表达的实验研究脊髓腰 5 节段神经结扎制作神经痛小鼠模型特定靶点的镇痛效果。慢病毒载体表达 GDNF 并且表达绿色荧光蛋白,注入左侧背部脊髓,未受损的腰 4 神经节背侧,受损的腰 5 背侧神经节,或小鼠足底皮肤。在脊髓神经结扎小鼠,向脊髓背侧及腰 4 神经节背侧注入表达 GDNF 和绿色荧光蛋白的慢病毒,在不同程度上但是明显减轻了机械触痛,在每个慢病毒注射部位 GDNF 蛋白表达均增加,然而向损伤的腰 5 神经节背侧或足底皮肤注入病毒则无效果。这一结果表明,GDNF 在神经痛中表现出镇痛效果是通过为受损的中枢神经终端神经元或者未受损的脊髓背侧神经节细胞介导的。所以,对于未受损的脊髓背侧神经节中 GDNF 依赖性神经元的研究将开辟神经痛治疗的新篇章^[20]。

4 GDNF对缺血性损害的保护作用

Hiroiyuki Miyazaki 等发现短暂性脑缺血促进星形细胞的活化,继而使神经元存活,在缺血后第 3-7 天表达 GDNF,缺血介导的星形细胞活化可能通过增加 GDNF 从而保护神经元免于死亡^[7]。B. Chen 等向原代大鼠神经干细胞转染 GDNF 质粒。成年大鼠进行 2 小时的人为大脑中动脉闭塞后给予再通。与移植单纯神经干细胞组相比,移植经 GDNF 基因整合的神经干细胞组在再灌注后第 2 及 3 周改良大鼠神经功能缺损的详细评分明显恢复。与对照组相比移植单纯神经干细胞及经 GDNF 基因整合的神经干细胞组的梗死体积均明显减少。移植 GDNF

基因整合的神经干细胞组神经元数目较移植单纯神经干细胞组明显增多,并且在再灌注后第 2、3 周,Syp 及 PSD-95 免疫反应明显增强,结果表明移植 GDNF 基因修饰的神经干细胞较单纯移植干细胞有更好的疗效^[21]。

将大鼠大脑中动脉暂时性阻塞制成脑梗塞模型后,经皮质注入 GDNF 可保护大脑半球免于自由基、钙超载等缺血性损伤,并阻止缺血后 NO 产生及再灌注损伤。Nicole 等实验发现,培养皮质神经元时,GDNF 可通过激活有丝分裂原激活蛋白(mitogen-activated protein,MAP)激酶途径,减少 N-甲基-D-天冬氨酸(N-Methyl-D-Aspartate,NMDA)引起钙离子内流和兴奋毒性神经元的死亡,同时,GDNF 预处理也能减少海马脑片由 NMDA 诱导的神经细胞死亡。由于缺血性损伤包括兴奋性氨基酸(excitatory amino acid, EAA)的释放以及其受体的激活,所以 GDNF 并不能阻止神经元凋亡,其保护效应可能是通过体内减轻 NMDA 的反应而发挥作用,我们同样证实了细胞外信号调节激酶(ERKs)激活途径对于 GDNF 介导的减少 NMDA 所致钙离子反应也是必不可少的^[22]。

不同的实验方法表明了 GDNF 在脑缺血后的保护作用,由于 GDNF 不能通过血脑屏障,故在多数实验中应用侵入性方法直接将神经生长因子注入脑内。利用 TAT-GDNF 融合蛋白穿过血脑屏障克服了这一限制。研究表明 TAT-GDNF 减少了短暂性大脑中动脉闭塞后梗死体积,并且提高小鼠神经功能评分^[23]。然而目前没有研究表明 TAT-GDNF 融合蛋白在脑缺血后的临床作用。

5 GDNF其他作用

在外周组织,GDNF 基因敲除小鼠出生后死于肾脏发育不全,GDNF 对肾脏发生的信号调节是交互的。输尿管芽促进肾间质上皮的分化,反过来肾间质又促进了输尿管芽的分支^[24]。GDNF 促进肠道神经元生长及存活,但是参与的机制仍不够清楚。GDNF 通过通过激活 GSK-3 β ,加强 GSK-3 β 氮端磷酸化作用,通过 PI3 激酶/Akt 信号转导通路来促进肠道神经元存活^[25]。

利用结构及超微结构技术分析 GDNF 缺失小鼠第一个白齿牙胚及三叉神经节神经元密度,结果表明 GDNF 缺失小鼠的造釉细胞及成牙质细胞均不能完全生长及发育,牙釉质基质及前期牙质层缺失,研究提示 GDNF 对于牙齿发育的一个新非神经元作用。GDNF 看起来并不参与牙齿的启动及形态学发生,但它对于细胞分化有着重要作用,三叉神经元的发育或神经纤维支配牙齿都直接依赖 GDNF^[26]。

在 José Luis Muñoz-Bravo 项实验中,证实了 GDNF 在神经祖细胞向胰腺移居这一过程中具有重要作用。随着胚胎发育,神经脊细胞衍生物在胰腺迁移分化,GDNF 表现出动态表达。限制性抑制胰腺上皮 GDNF 活性会导致明显的神经元和胶质细胞缺失,降低副交感神经在胰腺的分布支配。对 GDNF 突变小鼠胚胎和体内试验分析证明在胰腺内 GDNF 对内脏定植神经祖细胞起到类似于神经营养的作用。数据进一步证明外源性 GDNF 在器官培养中具有促进胰腺祖细胞增殖的作用^[27]。

GDNF 对精子的控制也引发研究兴趣,因为 GDNF 是第一个发现具有调控精原干细胞细胞结局的分子。Huleihel M 的实验测定了小鼠 GDNF 细胞的水平和来源随年龄增长的变化,以

及在体外实验中促进 GFR- α 1 阳性细胞迁移的能力。实验通过酶联免疫吸附试验、实时 PCR 和免疫荧光染色法分析表明,随着年龄增长,在睾丸组织内 GDNF 水平逐渐下降,GDNF 受体表达与 GDNF 相类似。体外实验中,向 GFR- α 1 阳性细胞中加入重组 GDNF 或 1 周龄小鼠精原干细胞上清液,结果显示 MEK、NF- κ B、TPCK 各通路的信号转导明显降低。实验首次证明了重组 GDNF 及精原干细胞上清液促使富含 GFR- α 1 阳性细胞迁移的作用。这一实验提示了 GDNF 对于精原干细胞的稳定及精子形成的特殊作用^[28]。GDNF 的信号转导研究也是男性避孕研究的热点目标。然而,由于 Ret 的激活改变有致癌风险,这项研究受到严重影响^[29]。

脑室注射 GDNF 后恶心、神经性厌食症、恶心是常见的不良反应。应用 75 微克或更大剂量的 GDNF 的受试者,大部分出现了体重降低。常被描述为触电感(莱尔米特征)的感觉异常,也是常见的不良反应,并与剂量大小无关,停用 GDNF 后症状消失。一半以上应用 75 微克或以上剂量 GDNF 受试者出现无症状性低钠血症;个别受试者出现了症状^[30]。

6 小结与展望

GDNF 是目前研究为止最重要的神经营养因子。综上所述,应用 GDNF,包括局部应用 GDNF、应用病毒携带 GDNF 基因以及移植表达 GDNF 的细胞不仅可促进多种神经元的存活与分化,对多种原因造成的神经损伤具有保护作用,对机体其它系统也有重要的调节作用,同时对不同类型的神经细胞损伤也具有很大的优势。尤其是对于帕金森病的运动症状,正在兴起的干细胞(包括诱导型多能干细胞、胚胎干细胞、神经干细胞、骨髓基质干细胞)移植结合 GDNF 治疗是正在探索中的一种较有前景的治疗方法。

目前可得的证据表明了 GFR α 1/Ret 受体系统的 GDNF 神经保护作用。然而,内源性 GDNF 的作用,不同脑细胞之间的干扰,以及神经保护的机制仍然了解的很少。对于 GDNF 神经保护的机制也许对促进患者新的有效的治疗策略的发展有重要作用。GFR α 1/Ret 受体系统小分子激活剂的发展有利于脑缺血患者脑保护治疗。

可行的治疗途径主要分为两大类:促进内源性 GDNF 合成释放及外源性应用 GDNF。迄今为止,对 GDNF 的研究主要限于实验室研究阶段而未能在临床上广泛应用,这是因为,GDNF 作为一种外源的大分子蛋白质,在体内容易降解,利用不同方法透过血脑屏障到达目标组织数量不足,因而使其临床应用受到极大限制。加之 GDNF 对不同细胞作用之间相互交织,对于特定神经细胞的保护作用不能很好的调控,是影响 GDNF 的特异性应用的主要障碍之一。随着分子生物学及基因工程学的不断发展,GDNF 的基因治疗被认为是最有前途的给药途径,而细胞介导的基因治疗是目前正在兴起的基因治疗新方法。这些新兴的技术方法可以进一步阐明 GDNF 作用机理网络,推动神经系统疾病治疗方法向前进入新的阶段。

参考文献(References)

[1] Katsuragi S, Ikeda T, Date I, et al. Grafting of glial cell line-derived neurotrophic factor secreting cells for hypoxic-ischemic encephalopathy in neonatal rats [J]. American journal of obstetrics and gynecology, 2005, 192(4): 1137-1145

[2] Lin LF, Doherty DH, Lile JD, et al. GDNF: A glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons [J]. Science, 1993, 260(5111): 1130-1132

[3] Bakshi A, Shimizu S, Keck CA, et al. Neural progenitor cells engineered to secrete GDNF show enhanced survival, neuronal differentiation and improve cognitive function following traumatic brain injury [J]. The European journal of neuroscience, 2006, 23(8): 2119-2134

[4] Roussa E, Kriegstein K. GDNF promotes neuronal differentiation and dopaminergic development of mouse mesencephalic neurospheres[J]. Neuroscience letters, 2004, 361(1-3): 52-55

[5] Cheng H, Huang SS, Lin SM, et al. The neuroprotective effect of glial cell line-derived neurotrophic factor in fibrin glue against chronic focal cerebral ischemia in conscious rats[J]. Brain research, 2005, 1033(1): 28-33

[6] Myckatyn TM, Kenney C, Tong A, et al. Muscle-derived GDNF facilitates motor nerve recovery following sciatic nerve crush injury [J]. Journal of the American College of Surgeons, 2007, 205(3): S92

[7] Miyazaki H, Nagashima K, Okuma Y, et al. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor induced by transient forebrain ischemia in rats[J]. Brain research, 2001, 922(2): 165-172

[8] Boger HA, Middaugh LD, Huang P, et al. A partial GDNF depletion leads to earlier age-related deterioration of motor function and tyrosine hydroxylase expression in the substantia nigra [J]. Experimental neurology, 2006, 202(2): 336-347

[9] Boger HA, Middaugh LD, Zaman V, et al. Differential effects of the dopamine neurotoxin mptp in animals with a partial deletion of the GDNF receptor, gfr alpha1, gene[J]. Brain research, 2008, 1241: 18-28

[10] Littrell OM, Granholm AC, Gerhardt GA, et al. Glial cell-line derived neurotrophic factor (GDNF) replacement attenuates motor impairments and nigrostriatal dopamine deficits in 12-month-old mice with a partial deletion of GDNF [J]. Pharmacology, biochemistry, and behavior, 2013, 104(17): 10-19

[11] Nutt JG, Burchiel KJ, Comella CL, et al. Randomized, double-blind trial of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in pd[J]. Neurology, 2003, 60(1): 69-73

[12] Gill SS, Patel NK, Hotton GR, et al. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in parkinson disease [J]. Nature medicine, 2003, 9(5): 589-595

[13] Dietz GP, Valbuena PC, Dietz B, et al. Application of a blood-brain-barrier-penetrating form of GDNF in a mouse model for parkinson's disease[J]. Brain research, 2006, 1082(1): 61-66

[14] Hoke A, Cheng C, Zochodne DW. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor family of growth factors in peripheral nerve injury in rats[J]. Neuroreport, 2000, 11(8): 1651-1654

[15] Barras FM, Pasche P, Bouche N, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor released by synthetic guidance channels promotes facial nerve regeneration in the rat[J]. Journal of neuroscience research, 2002, 70(6): 746-755

[16] Barati S, Hurtado PR, Zhang SH, et al. GDNF gene delivery via the p75(ntr) receptor rescues injured motor neurons[J]. Experimental neurology, 2006, 202(1): 179-188

[17] Magill CK, Moore AM, Yan Y, et al. The differential effects of pathway- versus target-derived glial cell line-derived neurotrophic factor on peripheral nerve regeneration [J]. Journal of neurosurgery, 2010, 113(1): 102-109