

Nogo-A 蛋白及调控轴突再生作用研究进展

孟瑶, 王颖

摘要 中枢神经系统损伤产生的抑制性微环境是神经再生困难的重要原因,其中 Nogo-A 蛋白是抑制轴突再生的关键因子,其结构域以片段形式通过不同途径释放到细胞外,与受体 NgR1、PirB、S1PR2 或 HSPG 相结合,激活多种信号通路调控细胞凋亡、运动以及细胞骨架蛋白聚合,引起细胞骨架解聚、生长锥塌陷,抑制神经元轴突生长。本文对 Nogo-A 蛋白的结构、受体和抑制轴突再生作用机制的研究进展进行综述。

关键词 Nogo-A 蛋白;受体;信号通路;轴突再生

中图分类号 R741;R741.02 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20220789

Nogo-A Protein and Inhibitory Functions on Axonal Regeneration MENG Yao, WANG Ying.
School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Abstract Nogo-A plays a crucial role in the inhibitory microenvironment in the central nervous system and is considered to be the most important barrier for neural regeneration. This review discusses the different domains, receptors and following signal pathways of Nogo-A, as well as their roles in apoptosis, motility and cytoskeleton polymerization, thereby inducing growth cone collapse and ultimately inhibiting axon regrowth. Therefore, Nogo-A would be promising targets for neural regeneration.

Keywords Nogo-A; receptor; signal pathway; axonal regeneration

作者单位

首都医科大学基础
医学院

北京 100069

基金项目

国家重点研发计划
(No. 2021YFC240
0801);

首都医科大学本科
生科研项目(No. 7
NZDS2022)

收稿日期

2022-9-14

通讯作者

王颖

wangying@ccmu.
edu.cn

中枢神经系统(central nervous system, CNS)损伤后再生困难,除神经元不能再生外,损伤区的抑制性微环境是导致这一结局的重要原因。其中髓鞘产生的再生相关抑制蛋白,包括 Nogo 蛋白、髓鞘相关蛋白和少突胶质细胞髓鞘糖蛋白等。特别是 Nogo 蛋白,对轴突再生有极强的抑制作用,其中 Nogo-A 作用最为显著^[1],是神经再生障碍的关键因子。随着对 Nogo-A 结构、功能和作用方式研究的深入,其在神经损伤修复中的重要作用不断凸显。血清 Nogo-A 可能作为判断脊髓损伤预后的标志物^[2],也成为诱导轴突生长的重要靶点。本文总结了 Nogo-A 的分子结构、分布特点、作用方式、生理功能及在神经损伤后作用的研究进展,阐明了 Nogo 可成为治疗神经损伤重要靶点的意义,为神经修复的基础研究和未来临床应用提供新思路。

1 Nogo-A 在 CNS 的分布和生理功能

Nogo-A 在胚胎、发育中和成年鼠的 CNS 中均有广泛的表达。在胚胎鼠中,Nogo-A 存在于迁移中的神经干细胞和神经管内未成熟神经元中^[3],在视网膜中的神经细胞也有表达^[4]。在发育期大鼠中,Nogo-A 主要存在于脑和脊髓内具有长轴突的神经元中,例如:嗅球、锥体细胞、海马中间神经元、脊髓运动神经元和背根神经节,在视网膜节细胞和轴突中也仍旧表达^[5]。在成年后大鼠中,Nogo-A 强烈表达于脑、脊髓和视网膜中:在脑内主要位于大脑皮质、海马 CA1~4 和齿状回、小脑浦肯野细胞和分子层及深部核团;在脊髓内主要位于少突胶质细胞胞体和突起,也表达于中间神经元和运动神经

元^[4];在视网膜表达于节细胞中^[5]。

在亚细胞水平,Nogo-A 在细胞内外均有表达,且发挥不同的作用。细胞内 Nogo-A 主要位于内质网,部分位于高尔基体,主要调节内质网的形态和功能,可能与蛋白质合成运输、调节细胞内钙离子水平和细胞自主功能有关^[6]。另有一小部分 Nogo-A 被转运至细胞表面,充当髓鞘相关的轴突抑制因子。

Nogo-A 的这种时空表达特征提示其功能广泛。Nogo-A 在 CNS 发育的不同阶段均发挥塑造神经系统的重要作用。在胚胎神经发育过程中,调节神经元前体细胞的迁移、体节形成^[7]。在神经发育前期,通过影响神经元形状、迁移和细胞骨架重组,调节轴突和树突的形成,形成分散、多分支、较短的神经突^[8]。在神经发育后期,通过调节肌动蛋白细胞骨架、减弱生长锥的运动,抑制神经突的生长并降低可塑性,从而稳定神经元回路^[8]。此外,Nogo-A 通过调节突触可塑性从而塑造神经网络结构,可能是大脑学习和记忆关键调整机制^[9]。Nogo-A 还可以通过与 NgR1 受体结合,减少兴奋性突触中 AMPA 型谷氨酸受体(AMPA Receptor, AMPAR)数量,抑制兴奋性传导^[10],或通过鞘氨醇-1-磷酸受体鞘氨醇-1-磷酸受体 2(sphingosine 1-phosphate receptor 2, S1PR2)结合^[11],限制突触上 GABA_AR 的扩散,促进抑制性 GABA 信号传导^[11,12],以上两种机制进而抑制运动技能学习以及成年大脑中消除恐惧能力。阻断 Nogo-A/NgR1 后可增强运动皮质中的 LTP,扩大突触修饰范围、增强突触强度,可以改善运动学习^[9],也可以消除成年鼠的恐惧记忆^[13]。而且,Nogo-A 对成年 CNS 突触可塑性的负调节作用高度

依赖空间、时间表达,进而精确调节神经元功能。神经元中的Nogo-A蛋白主要影响靠近细胞体的近端树突,在损伤后迅速释放,直接在局部快速抑制突起,影响重塑;而少突胶质细胞中的Nogo-A蛋白主要影响远端树突,调控树突棘的形态分支及生长锥的形态活性,抑制轴突作用更全面和缓慢,限制可塑性和稳定神经网络^[14]。这些结果表明Nogo-A对CNS有髓神经纤维的生长、调控和稳定发挥重要作用。

当CNS中轴突由于创伤、缺血或者其病因而受到损伤后,神经元和少突胶质细胞中的Nogo-A蛋白主要发挥抑制轴突再生的作用。例如将背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)细胞和一段视神经(属CNS)共培养,视神经内Nogo-A抑制DRG突起长入。在视神经内注射Nogo-A抗体后,则会长入大量的DRG轴突,且该作用具有剂量依赖性,表明CNS中的Nogo-A是神经突生长的主要抑制因子^[15]。损伤使Nogo-A的mRNA和蛋白表达升高,并被酶剪切成大量效应片段^[16]。Nogo-A片段大幅增加,多数以外泌体形式出胞与受体结合,激活下游信号通路,使生长锥塌陷并强烈抑制轴突再生^[17]。此外,Nogo-A还可影响少突胶质细胞的分化成熟^[15]、增加少突胶质细胞对急性氧化损伤的敏感性而导致其死亡^[18],进而间接抑制轴突的再生。因此,Nogo-A成为神经损伤后再生障碍的主要因素。

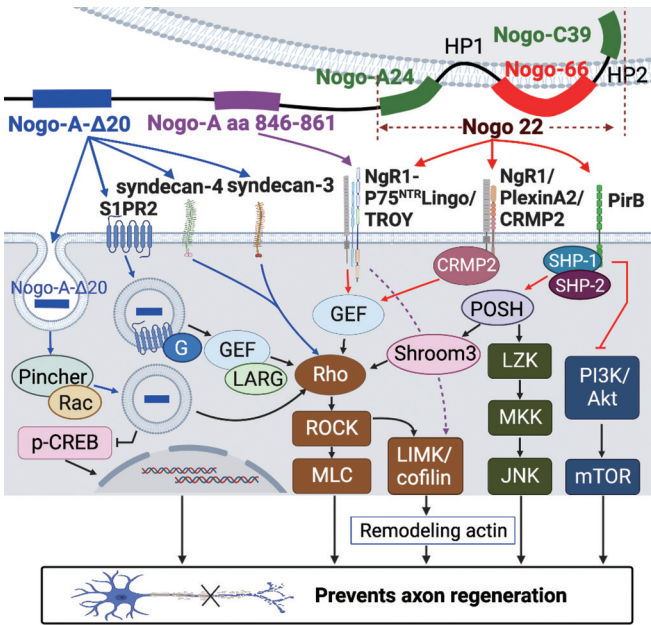
2 Nogo-A蛋白的分子结构及功能区

在大鼠中,Nogo-A是由1 163个氨基酸组成的跨膜蛋白,包含1个由1 024个氨基酸残基组成的胞外结构域、2~3个跨膜结构域和1个短胞内结构域^[19](图1)。其中3个结构域对轴突生长抑制作用明显,即Nogo 22、Nogo-A-Δ20和Nogo-A aa 846-861^[20]。

Nogo 22是Nogo-A羧基端的188个氨基酸残基,包含Nogo-A24(第966~989位氨基酸残基)、Nogo-C39(第1 125~1 163位氨基酸残基)和Nogo-66(第1 026~1 091位氨基酸残基)3个片段,均可与NgR1结合^[3],但前两者不会触发下游信号通路,而Nogo-66与受体结合后能强烈抑制神经元生长和粘附。也有研究表明Nogo 22完整结构域对轴突的抑制效果比Nogo-66单独作用更强^[21]。

Nogo-A-Δ20位于细胞外,包含第544~725位氨基酸残基,通过内化作用传递信号发挥效应。可以通过囊泡形式直接由Pincher蛋白和Rac蛋白介导内吞进入神经突,在微管作用下沿轴突逆行转运至细胞体,激活RhoA并下调磷酸化cAMP水平,调节基因转录^[22];可与受体结合后被内吞入神经元、抑制轴突生长。Nogo-A-Δ20还可通过直接或间接结合整合素,降低整合素与其配体的结合亲和力,或选择性地阻断由某些整合素(例如αvβ3整合素、α5β1整合素)启动的信号转导,抑制粘附复合物的形成,从而阻断肌动蛋白激活和细胞骨架偶联,抑制细胞扩散及生长锥和轴突的生长^[23]。

Nogo-A aa 846~861是新发现的结构域,包含第846~861位氨基酸残基,与NgR1结合抑制轴突生长。Nogo-A aa 846~861可使培养的皮质神经元和背根神经元的神经突及分支数量减少且长度缩短,加入特异性抗体阻断后则有所恢复。此外,



注:Nogo-A蛋白三个主要结构域:Nogo 22、Nogo-A-Δ20和Nogo-A aa 846-861。(1)Nogo 22主要通过其Nogo-66结构域作用,与NgR1结合,形成NgR1-P75^{NTR}-Lingo/TROY或NgR1/PlexinA2/CRMP2复合体激活Rho-ROCK通路,激活LIMK或MLC;也可与PirB结合,募集SHP-1/2并磷酸化,共同活化POSH,POSH与Shroom3和LZK偶联,分别激活Rho-ROCK通路及MKK和JNK通路,或结合后抑制PI3K/Akt/mTOR通路,几种途径最终均抑制损伤轴突再生。(2)Nogo-A-Δ20以囊泡形式经蛋白介导入胞、或与S1PR2结合共同被胞吞入胞、也可与HSPG家族成员syndecan-3和syndecan-4结合,最终均激活Rho-ROCK通路,抑制损伤轴突再生。(3)Nogo-A aa 846-861与NgR1结合,通过NgR1-P75^{NTR}-Lingo/TROY激活LIMK/cofilin/actin通路,重塑肌动蛋白,抑制损伤轴突再生。S1PR2: sphingosine 1-phosphate receptor 2,鞘氨醇-1-磷酸受体2; syndecan-3/4: 硫酸乙酰肝素蛋白多糖HSPG可跨膜家族成员; NgR1-P75^{NTR}-Lingo/TROY: 跨膜共受体; NgR1/PlexinA2/CRMP2: 跨膜共受体; PirB: Paired immunoglobulin-like receptor B,成对免疫球蛋白样受体; p-CREB: phospho-cAMP response element binding,磷酸化cAMP反应元件结合蛋白; GEF: guanine nucleotide exchange factor,鸟嘌呤核苷酸交换因子; LARG: leukemia-associated RhoGEF, Rho-鸟嘌呤核苷酸交换因子; MLC: myosin light chain,肌球蛋白轻链; LIMK: LIM kinase, LIM激酶; POSH: plenty of SH3s, SH3s绞形蛋白; Shroom3: 肌动蛋白-肌球蛋白调节蛋白; SHP-1/2: src homology 2-containing protein tyrosine phosphatase1/2,含有Src同源性2的蛋白酪氨酸磷酸酶; LZK: leucine zipper kinase,亮氨酸拉链激酶; MKK: mitogen-activated protein kinase kinase,裂原活化蛋白激酶激酶; JNK: c-Jun N-terminal kinase, c-Jun氨基末端激酶; PI3K: phosphoinositide 3-kinases,磷脂酰肌醇3-激酶; Akt: protein kinase B,苏氨酸激酶/蛋白激酶B; mTOR: mammalian target of rapamycin,雷帕霉素激酶

图1 Nogo-A蛋白结构域、结合受体及激活的信号通路

Nogo-A aa 846~861还可以降低痛觉的阈值,使痛觉敏感化,促进炎症性疼痛^[16,20]。

3 Nogo-A 蛋白的释放

完整的 Nogo-A 在胞内被β-分泌酶 1 及其他加工酶剪切为含不同结构域的片段,以外泌体的形式释放^[16,24,25],与受体结合后传导信号,影响轴突的生长^[24]。而 Nogo-66 片段还可嵌于损伤的少突胶质细胞表面,以细胞-细胞作用方式结合受体;或经少突胶质细胞裂解后直接释放出胞结合受体,抑制轴突再生^[26](图 2)。

4 Nogo-A 蛋白调控轴突再生途径

含 Nogo-A 不同结构域的片段由外泌体释放至神经元质膜后,与相应受体结合,激活下游的不同信号通路,影响轴突的生长。

4.1 NgR1 受体介导的轴突抑制作用

NgR 是位于细胞外侧的 GPI 锚定膜蛋白,广泛分布于 CNS 中,在灰质中含量较高。NgR 包括 NgR1 ~ NgR3,是轴突生长抑制性蛋白 Nogo-A、髓鞘相关蛋白和少突胶质细胞髓鞘糖蛋白作用的集中点^[27]。NgR1 可作为结构域 Nogo-66 和 Nogo-A aa 846 ~ 861 的受体,二者结合后,NgR1 与 TNF 受体超家族成员 P75^{NTR}和 TROY、跨膜蛋白 Lingo-1 组成跨膜共受体 NgR-P75^{NTR}-Lingo/TROY^[28,29],向细胞内传递信号,可以抑制轴突生长^[28]、阻断轴突自身修复^[30]。NgR2 结合髓鞘相关蛋白。NgR3 为 NgR1 的结合伴侣,也可能作为跨膜共受体的组成部分发挥作用^[31]。

NgR1 作用受 cAMP 影响,当体内 cAMP 含量升高,直接激活交换蛋白(Epac),诱导细胞表面 NgR1 快速内化,阻断其与 Nogo-A 结合引发的轴突抑制。上述过程可逆,即当 cAMP 含量下降后,NgR1 可经胞内运输至质膜并与之融合,NgR1 重回细胞表面,继续与 Nogo-A 结合,抑制轴突再生^[32,33]。另外,NgR1 可与促进神经生长的 NGF/Trk A 经共同受体 P75^{NTR}交互作用^[34],促进生长相关蛋白 43 的表达,促进神经元生长发育和再生,进而促进轴突再生,对脊髓损伤后神经可塑性有一定影响^[35]。

研究表明,阻断 Nogo-A/NgR1 信号通路可促进轴突形成。例如,内源性 NgR1 拮抗剂侧嗅束引导物质(lateral olfactory tract usher substance, LOTUS)可以促进脊髓损伤小鼠轴突再生并改善其运动功能,且 LOTUS 表达水平与运动改善程度呈剂量依赖性,因此推断 LOTUS 是促进神经修复的必需因子^[36,37]。并且,LOTUS 还可以通过干预 NgR1 的作用,同时阻断胶质瘢痕中

的主要抑制分子硫酸软骨素蛋白聚糖(chondroitin sulfate proteoglycans, CSPG)与配体 NgR1 的结合^[38],可双重减弱 Nogo-A 和 CSPG 对轴突生长的抑制作用^[39],还有可能通过减少瘢痕组织形成的物理屏障减弱对突触再生的抑制^[40]。LOTUS 作为内源性蛋白具有天然的优势,可以避免外源性药物产生的副作用,因此有望成为未来改善神经功能的治疗药物^[37,41]。

4.1.1 Nogo-66 与 NgR1 结合 Nogo-66 与 NgR1 结合是抑制损伤轴突再生的关键途径之一。Nogo-66 与 NgR1 结合后形成跨膜共受体 NgR1-P75^{NTR}-Lingo/TROY。可以通过活化鸟嘌呤核苷酸交换因子,激活 Rho/ROCK/LIMK2/cofilin 通路;也可以磷酸化肌球蛋白轻链,使肌球蛋白收缩,影响细胞骨架的结构,使生长锥塌陷,导致神经元凋亡,神经轴突再生受限^[42,43]。

近期研究还发现,跨膜蛋白 PlexinA2 缺失的小鼠体内对轴突再生的抑制作用可以减弱甚至解除,揭示了 Nogo-66 与 NgR1 结合后一种新的信号途径:募集 PlexinA2 作为协同受体,后者进一步募集与抑制轴突生长相关的胞浆蛋白 CRMP2,与 NgR1 组合作为三元复合物 NgR1/PlexinA2/CRMP2,可能通过增加 Rho-GTP 合成,激活下游 ROCK,使 cofilin 去磷酸化,抑制肌动蛋白纤维的聚合,阻止受损轴突再生^[44]。

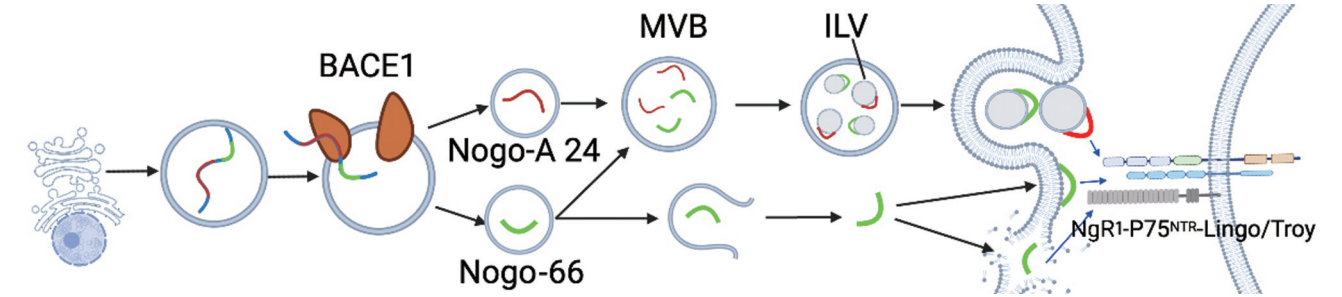
研究表明,阻断 Nogo-66 与 NgR1 结合,如利用白细胞免疫球蛋白样受体(leukocyte immunoglobulin-like receptor A3, LILRA3)竞争性结合 Nogo-66,可有效减弱 Nogo-66 对神经元突起生长的抑制作用^[45]。

4.1.2 Nogo-A aa 846-861 与 NgR1 结合 Nogo-A aa 846-861 与 NgR1 结合,形成跨膜共受体 NgR1-P75^{NTR}-Lingo/TROY,增加了下游 LIMK 和 cofilin 的磷酸化,可能通过激活 LIMK/cofilin/actin 信号通路,使 cofilin 持续磷酸化,失去活性,通过调节肌动蛋白^[20,46,47],抑制受损轴突再生。

4.2 PirB 介导的轴突抑制作用

成对免疫球蛋白样受体 B (Paired immunoglobulin-like receptor B, PirB)是组织相容性复合物 I 分子受体,是 I 型跨膜糖蛋白^[48],含 1 个胞内结合位点、1 个跨膜片段和 6 个胞外结合位点,后者包括 D1-D6 6 个免疫球蛋白样结构域。

Nogo-66 主要通过与其 PirB 胞外结合位点 D3-D6 结合^[49,50],使 ITIM 磷酸化,募集并磷酸化含有 Src 同源性 2 的蛋白酪氨酸磷



注:Nogo-A 在内泌体中被β-分泌酶 1 (BACE1)与其他酶共同切割为不同结构域的片段(以 Nogo-A 24、Nogo-66 及其跨膜共受体 NgR1-P75^{NTR}-Lingo/TROY 为例),形成外泌体,在多泡体(Multi Vesicular Bodies, MVB)中形成腔内囊泡 (Intralumenal Vesicles, ILV)。MVB 运动至质膜与之融合后,释放出带有 Nogo 结构域的 ILV。ILV 到达至神经元质膜并与膜上受体结合,激活细胞信号通路。此外,Nogo-66 还可直接嵌于受损细胞表面或经细胞裂解后释放出胞与受体结合发挥作用

图 2 Nogo-A 出胞途径及与细胞作用方式

酸酶 SHP-1、SHP-2。SHP-1/2 可与 SH3s 绞形蛋白偶联,进而激活下游肌动蛋白-肌球蛋白调节蛋白和 Rho-ROCK 信号通路,也可与亮氨酸拉链激酶偶联,进而激活下游 MKK 和 JNK 通路,抑制轴突再生^[51]。此外,Nogo-66 与 PirB 结合后还可抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路^[52,53],抑制受损轴突再生。阻断 PirB 和 Nogo-66 结合,可有效解除其对轴突再生的抑制作用。例如,LILRA3 通过与 Nogo-66 竞争性结合、内源 LOTUS 通过与 PirB 竞争性结合,二者均可显著削弱 Nogo-66 结合 PirB 介导的神经突生长的抑制作用^[45,49]。

研究显示,PirB 对轴突生长的抑制作用比 NgR1 更强烈。通过基因干扰或抗体阻断 NgR1 和 PirB 均可减弱对生长锥再生的抑制作用,但单独去除 PirB 后,除解除 Nogo-A 的抑制作用外还可以部分解除髓鞘相关蛋白、少突胶质细胞髓鞘糖蛋白和髓鞘对神经元突起的抑制作用,因此与 NgR1 相比,PirB 抑制轴突生长的作用更显著^[54]。因此,PirB 可能成为轴突再生的重要靶点。

4.3 S1PR2 介导的轴突抑制作用

S1PRs 为 7 次跨膜的 G 蛋白偶联受体,包括 5 个亚型: S1PR1 ~ S1PR5^[55]。主要存在于成人 CNS 灰质的海马锥体细胞、小脑浦肯野细胞、皮质神经元和脊髓运动神经元及视网膜神经节细胞,也表达于 3T3 成纤维细胞和未成熟小脑颗粒神经元等 Nogo-A-Δ20 应答细胞中^[56]。有调节细胞凋亡、细胞运动及细胞骨架的功能。

S1PR2 是 Nogo-A-Δ20 的高亲和力受体。二者主要结合于 S1PR2 细胞外结合位点,胞吞后进入细胞,并迅速被内化为早期内体,这是抑制轴突生长的关键步骤^[56]。随后,通过 G_{α13} 蛋白传递信号^[57],与 Rho-鸟嘌呤核苷酸交换因子偶联形成 Rho GEF-LARG,激活 GTPase RhoA,介导 Rho-ROCK 依赖的细胞效应^[56,58],抑制受损轴突再生。将 S1PR2 基因敲除或利用抑制剂导致 S1PR2 失活可增强髓鞘修复,促进轴突再生^[59]。

4.4 HSPG 介导的轴突抑制作用

硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (heparan sulfate proteoglycan, HSPG) 是一种调节干细胞迁移、轴突生长、突触形成和神经元连接相关过程的关键受体。其跨膜的家族成员 syndecan-3 和 syndecan-4 可通过糖胺聚糖链促进 Nogo-A-Δ20 与 S1PR2 结合,也可直接与 Nogo-A-Δ20 结合,进而激活 Rho-ROCK 通路,抑制神经突起的生长和细胞迁移^[60],抑制受损轴突的再生。

5 以 Nogo 为靶点的神经修复应用

5.1 Nogo 抗体类单药的应用

动物实验表明,脊髓损伤后使用 Nogo 抗体阻断 Nogo 蛋白,可在一定程度上恢复神经轴突生长能力和运动功能,还能部分改善脊髓损伤产生的肌肉痉挛、胰岛素分泌增加、膀胱功能障碍等。进一步证实,Nogo 抗体使用的时机、注射方式和运动训练配合均可对治疗结果产生影响。脊髓损伤后即刻治疗对组织和功能都有显著改善,而延迟治疗的效果则是渐进的,疗效慢且低于即刻治疗^[61]。鞘内注射抗体方式相比于静脉注射和皮下注射

有明显的优越性,可以绕过血脑屏障,通过注射小剂量药物来提高耐受性^[62]。Nogo 抗体治疗后结合训练的序贯疗法是脊髓不完全损伤后恢复的最有效策略^[61,63],但因其应用处于初始阶段,对于序贯治疗的时间、药物剂量、训练类型、频率、持续时间和强度等相关参数仍没有明确的治疗方案,还需进一步研究^[61]。

动物实验证实了使用 Nogo 抗体安全性良好,没有产生过敏、疼痛等副作用。但有证据表明 Nogo 抗体可能会因为抑制 CNS 而产生自发性癫痫、恐惧感消失、精神分裂症等症状,将 Nogo 抗体治疗限于脊髓和脑干局部,或联合细胞移植以及抑制胶质疤痕等补充疗法会在一定程度上减少上述症状的产生^[61]。另外,Nogo 抗体治疗对恢复轴突再生的疗效也会因为自身遗传学差异及损伤不同程度的影响而产生差异^[61]。

目前针对 Nogo 的抗体及抑制剂药物临床试验已经逐步开展。Nogo-A 抗体 ATI355 的一期临床试验首次将 Nogo 抗体药物应用于人体,针对急性创伤性完全截瘫和四肢瘫痪患者,得出结论:该药具有良好的耐受性,通过鞘内注射、尤其是推注方式给药,是一种可行的治疗急性脊髓损伤的方法^[62,64]。但由于研究样本量少和开放性标签实验的局限性,ATI355 的疗效尚需更大样本量、安慰剂对照的随机试验来进一步证实^[62]。另一项通过多次注射 Nogo-A 抗体 NG-101 于急性颈髓损伤 4 ~ 28 d 患者评估疗效的二期试验也在进行中^[65]。此外,还有一项针对 Nogo-A 抑制剂 AXER-204 的二期试验,通过腰椎穿刺缓慢推注治疗慢性颈髓损伤患者,经单次递增剂量给药和重复剂量给药两个阶段评估疗效,研究已完成,但结果仍未公布^[66]。

5.2 Nogo 抗体与其他方式联合应用

由于神经修复的复杂性,单一作用于 Nogo-A 蛋白并不能完全实现轴突再生,与其他多种方法联合应用会有更强的神经修复效果。例如,Nogo-A 抗体与 CSPG 的降解酶软骨素酶 ABC (Chondroitinase ABC, ChABC) 联用可通过两种不同的机制促进轴突再生,更好地提高 CNS 病变后组织和行为恢复的能力^[39]。脊髓损伤后立即给予 Nogo-A 抗体治疗 2 周,1 周后给予 ChABC 10 d,ChABC 治疗 1 周后再联合康复训练的序贯疗法是最适治疗方式^[67]。

Nogo-A 抗体联合运动诱导治疗对神经重塑可能也有重要意义。运动训练可诱导 Nogo-A 水平短期下调,允许神经元建立新的突触连接,促进学习行为的形成;在后期又可通过上调 Nogo-A 水平使重塑的神经元联系形成稳定的突触,固化神经元环路的结构改变,形成稳定的学习记忆。在恰当时间窗,即突触重塑早期阶段,联合使用 Nogo-A 抗体则可显著加强技巧性运动学习过程,加强突触重塑。由此可见,运动训练结合 Nogo-A 抗体的精准时机应用可调控神经突触可塑性,对改善认知、学习记忆和运动功能有重要的临床意义。

6 结语

Nogo-A 蛋白作为 CNS 轴突生长的强烈抑制因子,在神经发育、神经损伤中发挥重要生理、病理作用,因而 Nogo-A 蛋白也成为促进轴突再生、神经重塑的重要靶点。干预 Nogo-A 蛋

白可解除其对轴突再生的抑制、改善神经损伤后的修复效果;若与多种方法联合应用则可能达到更好的疗效,成为未来治疗神经损伤、促进神经修复有潜力的治疗手段。

参考文献

- [1] Mcgee AW, Strittmatter SM. The Nogo-66 receptor: focusing myelin inhibition of axon regeneration[J]. Trends Neurosci, 2003, 26: 193-198.
- [2] Shi H, Xie L, Xu W, et al. Nogo-A Is a Potential Prognostic Marker for Spinal Cord Injury[J]. Dis Markers, 2022, 2022: 2141854.
- [3] Schwab ME. Functions of Nogo proteins and their receptors in the nervous system[J]. Nat Rev Neurosci, 2010, 11: 799-811.
- [4] Huber AB, Weinmann O, Brösamle C, et al. Patterns of Nogo mRNA and protein expression in the developing and adult rat and after CNS lesions[J]. J Neurosci, 2002, 22: 3553-3567.
- [5] Pernet V, Joly S, Christ F, et al. Nogo-A and myelin-associated glycoprotein differently regulate oligodendrocyte maturation and myelin formation[J]. J Neurosci, 2008, 28: 7435-7444.
- [6] Teng FY, Tang BL. Cell autonomous function of Nogo and reticulons: The emerging story at the endoplasmic reticulum[J]. J Cell Physiol, 2008, 216: 303-308.
- [7] Caltharp SA, Pira CU, Mishima N, et al. Nogo-A induction and localization during chick brain development indicate a role disparate from neurite outgrowth inhibition[J]. BMC Dev Biol, 2007, 7: 32.
- [8] Montani L, Gerrits B, Gehrig P, et al. Neuronal Nogo-A modulates growth cone motility via Rho-GTP/LIMK1/cofilin in the unlesioned adult nervous system[J]. J Biol Chem, 2009, 284: 10793-10807.
- [9] Zemmar A, Weinmann O, Kellner Y, et al. Neutralization of Nogo-A enhances synaptic plasticity in the rodent motor cortex and improves motor learning in vivo[J]. J Neurosci, 2014, 34: 8685-8698.
- [10] Jitsuki S, Nakajima W, Takemoto K, et al. Nogo Receptor Signaling Restricts Adult Neural Plasticity by Limiting Synaptic AMPA Receptor Delivery[J]. Cereb Cortex, 2016, 26: 427-439.
- [11] Metzdorf K, Fricke S, Balia MT, et al. Nogo-A Modulates the Synaptic Excitation of Hippocampal Neurons in a Ca(2+) -Dependent Manner[J]. Cells, 2021, 10: 2299.
- [12] Fricke S, Metzdorf K, Ohm M, et al. Fast Regulation of GABAAR Diffusion Dynamics by Nogo-A Signaling[J]. Cell Reports, 2019, 29: 671-684.e6.
- [13] Bhagat SM, Butler SS, Taylor JR, et al. Erasure of fear memories is prevented by Nogo Receptor 1 in adulthood[J]. Mol Psychiatry, 2016, 21: 1281-1289.
- [14] Zemmar A, Chen CC, Weinmann O, et al. Oligodendrocyte- and Neuron-Specific Nogo-A Restrict Dendritic Branching and Spine Density in the Adult Mouse Motor Cortex[J]. Cereb Cortex, 2018, 28: 2109-2117.
- [15] Chen MS, Huber AB, Van Der Haar ME, et al. Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1[J]. Nature, 2000, 403: 43443-43449.
- [16] Sekine Y, Lindborg JA, Strittmatter SM. A proteolytic C-terminal fragment of Nogo-A (reticulon-4A) is released in exosomes and potently inhibits axon regeneration[J]. J Biol Chem, 2020, 295: 2175-2183.
- [17] Pradhan LK, Das SK. The Regulatory Role of Reticulons in Neurodegeneration: Insights Underpinning Therapeutic Potential for Neurodegenerative Diseases[J]. Cell Mol Neurobiol, 2021, 41: 1157-1174.
- [18] Wang YY, Han N, Hong DJ, et al. Nogo-A aggravates oxidative damage in oligodendrocytes[J]. Neural Regen Res, 2021, 16: 179-185.
- [19] Grandpré T, Nakamura F, Vartanian T, et al. Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein[J]. Nature, 2000, 403: 439-444.
- [20] Liu H, Su D, Liu L, et al. Identification of a new functional domain of Nogo-A that promotes inflammatory pain and inhibits neurite growth through binding to NgR1[J]. Faseb J, 2020, 34: 10948-10965.
- [21] Huebner EA, Kim BG, Duffy PJ, et al. A multi-domain fragment of Nogo-A protein is a potent inhibitor of cortical axon regeneration via Nogo receptor 1[J]. J Biol Chem, 2011, 286: 18026-18036.
- [22] Joset A, Dodd DA, Halegoua S, et al. Pincher-generated Nogo-A

- endosomes mediate growth cone collapse and retrograde signaling[J]. J Cell Biol, 2010, 188: 271-285.
- [23] Hu F, Strittmatter SM. The N-terminal domain of Nogo-A inhibits cell adhesion and axonal outgrowth by an integrin-specific mechanism[J]. J Neurosci, 2008, 28: 1262-1269.
- [24] Drake S, Fournier A. Nogo BACE jumps on the exosome[J]. J Biol Chem, 2020, 295: 2184-2185.
- [25] Hessvik NP, Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release[J]. Cell Mol Life Sci, 2018, 75: 193-208.
- [26] Ng CE, Tang BL. Nogos and the Nogo-66 receptor: factors inhibiting CNS neuron regeneration[J]. J Neurosci Res, 2002, 67: 559-565.
- [27] Karlsson TE, Wellfelt K, Olson L. Spatiotemporal and Long Lasting Modulation of 11 Key Nogo Signaling Genes in Response to Strong Neuroexcitation[J]. Front Mol Neurosci, 2017, 10: 94.
- [28] Meabon JS, De Laat R, Ieguchi K, et al. LINGO-1 protein interacts with the p75 neurotrophin receptor in intracellular membrane compartments[J]. J Biol Chem, 2015, 290: 9511-9520.
- [29] Theotokis P, Grigoriadis N. p75NTR and TROY: Uncharted Roles of Nogo Receptor Complex in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55: 6329-6336.
- [30] Schwab ME, Strittmatter SM. Nogo limits neural plasticity and recovery from injury[J]. Curr Opin Neurobiol, 2014, 27: 53-60.
- [31] Zhang L, Kuang X, Zhang J. Nogo receptor 3, a paralog of Nogo-66 receptor 1 (NgR1), may function as a NgR1 co-receptor for Nogo-66[J]. J Genet Genomics, 2011, 38: 515-523.
- [32] Gopalakrishna R, Mades A, Oh A, et al. Cyclic-AMP induces Nogo-A receptor NgR1 internalization and inhibits Nogo-A-mediated collapse of growth cone[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 523: 678-684.
- [33] Gopalakrishna R, Lin C, Kindy M S, et al. Nogo-A receptor internalization by cyclic adenosine monophosphate in overcoming axonal growth inhibitors after stroke[J]. Neural Regen Res, 2022, 17: 91-92.
- [34] Wen Y, Liu G, Jia L, et al. MicroRNA-141 binds to the nerve growth factor receptor associated protein 1 gene and restores the erectile function of diabetic rats through down-regulating the nerve growth factor/neurotrophin receptor p75 (NGF/p75NTR) signaling[J]. J Cell Biochem, 2018, 120: 7940-7951.
- [35] 杨林, 邹瑶, 周宾宾. 受损脊髓神经轴突再生过程中Nogo-A/NgR及NGF/TrkA信号通路的交互作用[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26: 3220-3224.
- [36] Kurihara Y, Iketani M, Ito H, et al. LOTUS suppresses axon growth inhibition by blocking interaction between Nogo receptor-1 and all four types of its ligand[J]. Mol Cell Neurosci, 2014, 61: 211-218.
- [37] Hirokawa T, Zou Y, Kurihara Y, et al. Regulation of axonal regeneration by the level of function of the endogenous Nogo receptor antagonist LOTUS[J]. Sci Rep, 2017, 7: 12119.
- [38] Dickendesher TL, Baldwin KT, Mironova YA, et al. NgR1 and NgR3 are receptors for chondroitin sulfate proteoglycans[J]. Nature Neurosci, 2012, 15: 703-712.
- [39] Kurihara Y, Saito Y, Takei K. Blockade of chondroitin sulfate proteoglycans-induced axonal growth inhibition by LOTUS[J]. Neuroscience, 2017, 356: 265-274.
- [40] 李倩仪, 赵虹, 胡曼, 等. 星型胶质细胞在脑缺血损伤中的作用机制[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17: 463-466.
- [41] Iketani M, Yokoyama T, Kurihara Y, et al. Axonal branching in lateral olfactory tract is promoted by Nogo signaling[J]. Sci Rep, 2016, 6: 39586.
- [42] Xiao WP, Ding LL, Min YJ, et al. Electroacupuncture Promoting Axonal Regeneration in Spinal Cord Injury Rats via Suppression of Nogo/NgR and Rho/ROCK Signaling Pathway[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2019, 15: 3429-3442.
- [43] Wang J, Ni G, Liu Y, et al. Tanshinone IIA Promotes Axonal Regeneration in Rats with Focal Cerebral Ischemia Through the Inhibition of Nogo-A/NgR1/RhoA/ROCK2/MLC Signaling[J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14: 2775-2787.
- [44] Sekine Y, Algarate PT, Cafferty WBJ, et al. PlexinA2 and CRMP2 Signaling Complex Is Activated by Nogo-A-Liganded NgR1 to Restrict Corticospinal Axon Sprouting after Trauma[J]. J Neurosci, 2019, 39: 3204-3216.

- [45] An H, Brettle M, Lee T, et al. Soluble LILRA3 promotes neurite outgrowth and synapses formation through a high-affinity interaction with Nogo 66[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129: 1198-209.
- [46] Bergoug M, Doudeau M, Godin F, et al. Neurofibromin Structure, Functions and Regulation[J]. *Cells*, 2020, 9: 2365.
- [47] Bernard O. Lim kinases, regulators of actin dynamics[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39: 1071-1076.
- [48] Deng XH, Ai WM, Lei DL, et al. Lipopolysaccharide induces paired immunoglobulin-like receptor B (PirB) expression, synaptic alteration, and learning-memory deficit in rats[J]. *Neuroscience*, 2012, 209: 161-170.
- [49] Yuji K, Toshiyuki T, Kohtaro T. Nogo receptor antagonist LOTUS exerts suppression on axonal growth-inhibiting receptor PIR-B[J]. *J Neurochem*, 2020, 155: 285-299.
- [50] Wang H, Xiong Y, Mu D. PirB restricts neuronal regeneration in developing rat brain following hypoxia-ischemia[J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6: 339-344.
- [51] Dickson HM, Zurawski J, Zhang H, et al. POSH is an intracellular signal transducer for the axon outgrowth inhibitor Nogo66[J]. *J Neurosci*, 2010, 30: 13319-13325.
- [52] Bi Y-Y, Quan Y. PirB inhibits axonal outgrowth via the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17: 1093-1098.
- [53] Liu Y, Ma C, Li H, et al. Nogo-A/Pir-B/TrkB Signaling Pathway Activation Inhibits Neuronal Survival and Axonal Regeneration After Experimental Intracerebral Hemorrhage in Rats[J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 69: 360-370.
- [54] Atwal JK, Pinkston-Gosse J, Syken J, et al. PirB is a functional receptor for myelin inhibitors of axonal regeneration[J]. *Science*, 2008, 322: 967-970.
- [55] Yang J, Yang L, Tian L, et al. Sphingosine 1-Phosphate (S1P)/S1P Receptor2/3 Axis Promotes Inflammatory M1 Polarization of Bone Marrow-Derived Monocyte/Macrophage via G(α)/PI3K/JNK Pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49: 1677-1693.
- [56] Kempf A, Tews B, Arzt ME, et al. The sphingolipid receptor S1PR2 is a receptor for Nogo-a repressing synaptic plasticity[J]. *PLoS Biol*, 2014, 12: e1001763.
- [57] Cannavo A, Liccardo D, Komici K, et al. Sphingosine Kinases and Sphingosine 1-Phosphate Receptors: Signaling and Actions in the Cardiovascular System[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 556.
- [58] Tang BL. Nogo-A and the regulation of neurotransmitter receptors[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15: 2037-2038.
- [59] Seyedsadr MS, Weinmann O, Amorim A, et al. Inactivation of sphingosine-1-phosphate receptor 2 (S1PR2) decreases demyelination and enhances remyelination in animal models of multiple sclerosis[J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 124: 189-201.
- [60] Kempf A, Boda E, Kwok JCF, et al. Control of Cell Shape, Neurite Outgrowth, and Migration by a Nogo-A/HSPG Interaction[J]. *Dev Cell*, 2017, 43: 24-34.e5.
- [61] Mohammed R, Opara K, Lall R, et al. Evaluating the effectiveness of anti-Nogo treatment in spinal cord injuries[J]. *Neural Dev*, 2020, 15: 1.
- [62] Kucher K, Johns D, Maier D, et al. First-in-Man Intrathecal Application of Neurite Growth-Promoting Anti-Nogo-A Antibodies in Acute Spinal Cord Injury[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2018, 32: 578-589.
- [63] Chen K, Marsh BC, Cowan M, et al. Sequential therapy of anti-Nogo-A antibody treatment and treadmill training leads to cumulative improvements after spinal cord injury in rats[J]. *Exp Neurol*, 2017, 292: 135-144.
- [64] ClinicalTrials.gov. Acute Safety, Tolerability, Feasibility and Pharmacokinetics of Intrath. Administered ATI355 in Patients With Acute SCI[EB/OL]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00406016?cond=ATI355&draw=2&rank=1>.
- [65] ClinicalTrials.gov. NISCI - Nogo Inhibition in Spinal Cord Injury (NISCI) [EB/OL]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03935321?cond=nogo&draw=2&rank=5>.
- [66] ClinicalTrials.gov. AXER-204 in Participants With Chronic Spinal Cord Injury (RESET) [EB/OL]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03989440?cond=nogo&draw=2&rank=13>.
- [67] Zhao RR, Andrews MR, Wang D, et al. Combination treatment with anti-Nogo-A and chondroitinase ABC is more effective than single treatments at enhancing functional recovery after spinal cord injury[J]. *Eur J Neurosci*, 2013, 38: 2946-2961.

(本文编辑:王晶)