

神经营养素在视觉中枢发育中的作用

丁锦东¹, 胡兵¹, 寿天德^{1,2}

(1. 中国科学技术大学神经生物学与生物物理学系, 安徽 合肥 230026; 2. 复旦大学生理学与生物物理学系, 上海 200433)

[摘要] 神经营养素在发育的视觉系统中表达, 并且能够以活动依赖的方式调节突触可塑性及神经元生长, 在视觉系统发育中起重要作用。

[关键词] 神经营养素; 视觉系统; 发育; 可塑性; 活动

Roles of neurotrophins in the development of central visual system

DING Jin-dong¹, HU Bing¹, SHOU Tian-de^{1,2}

(1. Department of Neurobiology and Biophysics, University of Science and Technology of China, Hefei 230026; 2. Department of Physiology and Biophysics, Fudan University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Neurotrophins are expressed in developing visual system. They can regulate synaptic plasticity and neuronal growth in an activity-dependent way. Neurotrophins play important roles during the development of visual system.

[Key words] neurotrophins; visual system; development; plasticity; activity

神经营养素(neurotrophins, NTs)是一群属于神经生长因子(nerve growth factor, NGF)家族的分泌型蛋白质, 主要包括神经生长因子、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养素-3(neurotrophin-3, NT-3)、神经营养素-4/5(neurotrophin-4/5, NT-4/5 或 NT-4)等。它们都能与低亲和性的p75神经营养素受体结合。每一个神经营养素还可以分别特异地与高亲和性酪氨酸激酶受体(tyrosin kinase receptor, Trk)结合, 发挥其生物学功能。TrkA为NGF的受体, TrkB为BDNF和NT-4的受体, TrkC为NT-3的受体。最近又发现了神经营养素-6(NT-6)和斑马鱼神经营养素-7(zNT-7)。

神经营养素可以维持神经元的存活、生长和分化, 以及在神经再生中发挥作用。这类作用是一个比较缓慢、持续的过程。近些年来的研究发现, 神经营

养素除了维持神经元存活和分化这一传统功能外, 还能够以活动依赖性的方式较快地发挥作用^[1~3]。它可以调节突触传递过程及突触可塑性, 甚至可能是一种新的中枢神经递质^[4~7]。

在视觉系统发育过程中, 神经活动是一个关键因素。例如在初级视皮质中的眼优势柱和神经元的方位选择特性的形成过程中, 自发的或由视觉经验驱动的神活动发挥着不可替代的作用^[8]。由于神经营养素与神经活动的关系密切, 它在这种活动依赖性的突触修饰过程中发挥的作用也日益受到重视^[9~11]。本文将就神经营养素在视觉系统发育当中, 特别是与活动性有关的视觉发育过程中的作用作一简要综述。

1 神经营养素及其受体在视皮质中的表达调控

神经营养素及其受体在视皮质内有特定的表达模式,并且它们的表达受到视觉发育和经验的调控^[5,11]。

Cabelli 等人用免疫组化方法研究了 TrkB 在发育的雪貂视觉系统中的表达模式。在出生前,在内囊和大脑皮质中间区(intemmediate zone)发现了 TrkB 免疫染色纤维。随年龄增长,这些纤维的染色逐渐减弱。到出生后早期,TrkB 在皮质神经元的胞体和树突上出现,并且随着发育而增强。至出生后 31 d (P31),TrkB 免疫阳性在皮质的 3 和 5 层最强。P45 时,皮质内每一层均出现着色细胞,特别是锥体细胞。这一模式一直维持到成年。TrkB 的免疫活性在不同的发育时间在不同脑区内的表达升高。这与该脑区内神经元生长和突触发生是相对应的^[12]。

大鼠视皮质中 BDNF mRNA 水平在 P10 到 P20 之间上升了约 10 倍,在 P20 以后至成年则无明显变化。很可能是在大鼠睁眼时(P14~15),传入到视皮质的电活动突然增加导致了 BDNF mRNA 表达量的上升。通过缝合眼睑对大鼠施行单眼剥夺,使得剥夺眼对侧皮质内 BDNF mRNA 水平下降。在关键期内或关键期后进行剥夺的效果是一样的。这种表达变化可能与双眼竞争的取消无关,而与形状视觉(pattern vision)的剥夺有关^[13]。

2 神经营养素对眼优势柱和外侧膝状体分层结构发育的作用

外膝体投射到初级视皮质的轴突末梢在第 4 层内依据其传递的视觉信息来自左、右眼的区别而分开,形成眼优势柱。眼优势柱的形成需要有活动依赖性的双眼之间的竞争。如果在发育关键期内对动物施行单眼剥夺,会影响到眼优势柱的发育。这也是研究活动依赖的发育可塑性的一个模型系统^[8]。外膝体细胞分成左右眼特异性的层也是一个类似的过程。实验表明,在眼优势柱形成和外膝体分层期间人为改变视皮质或外膝体内神经营养素的水平,眼优势柱或外膝体分层的发育受到扰乱。

2.1 NGF——影响眼优势柱发育的早期探索

Maffei 等人对 NGF 在眼优势柱发育中的作用进行了详尽的研究^[14,15]。他们发现,如果在单眼缝合期间向大鼠侧脑室内灌注大量的 NGF,则不能观察到单眼剥夺的任何效应。若在关键期内向脑内移植可

持续提供抗 NGF 抗体的杂交瘤细胞,将对视皮质的功能发育产生明显的扰乱,视皮质变为由对侧眼支配,视皮质神经元的双眼性下降,外膝体神经元萎缩,关键期延长。

外源性提供 NGF 能改变单眼剥夺对皮质神经元的生理效应,但由此得出 NGF 是直接作用于 LGN 轴突而影响眼优势柱的形成就值得深究了。首先,NGF 的受体 TrkA 仅在基底前脑胆碱能神经元表达,这些神经元的轴突是参与视皮质活动依赖的可塑性调节的。相反,近来在猫和雪貂上的实验证实 LGN 和皮质有大量的 TrkB 和 TrkC 而未检测到 TrkA 的存在,并且在发育的某段时间内 LGN 神经元有 TrkB 免疫阳性;第二,因为 NGF 和抗 NGF 的抗体是由脑室灌注而非视皮质局部给予的,那么它们极有可能是直接作用于基底前脑胆碱能神经元的轴突;最后,高剂量的 NGF (> 2 mg/d) 灌入可能引起 NGF 竞争性交叉结合内源性的 TrkB 和 TrkC。因而,在生理条件下 NGF 是否直接作用于 LGN 轴突而真正起作用值得怀疑^[5,9]。

2.2 BDNF 和 NT-4 的作用 视皮质内有大量 TrkB 表达,因而作为 TrkB 受体的配基的 BDNF 和 NT-4 引起了更大的研究兴趣。用不同的方法改变 BDNF 或 NT-4 的水平的确会影响到眼优势柱的发育。

Cabelli 等用渗透微泵(osmotic minipump)将各种神经营养素在小猫关键期顶峰期间施加于视皮质。经过两周灌注后,用形态学手段检测猫的眼优势柱。结果显示 BDNF 和 NT-4 阻止了局部灌注神经营养素区域内眼优势柱的形成,而 NGF 和 NT-3 没有这种效应^[16]。

随后,Cabelli 等又将神经营养素竞争性拮抗剂(由 Trk 的胞外段和 IgG 的 Fc 端构成的一个嵌合蛋白)注入视皮质,结果表明只有 TrkB-IgG 可以抑制眼优势柱的形成。因为 TrkB-IgG 可以与内源性的 BDNF 和 NT-4 结合,这进一步说明,正常时以有限的量存在的 TrkB 内源配基对于外膝体末梢分成眼优势柱是必需的^[17]。

在视皮质发育中,基板(subplate)中一部分神经元向皮质板(cortical plate)投射胆碱能轴突,可能影响到皮质板神经元的活动性及神经营养素的表达。在眼优势柱形成前 10 d 用药物方法去除基板,引起了皮质内 BDNF 的 mRNA 水平升高。与向皮质中注射 BDNF 类似地阻断了眼优势柱的形成^[18]。

Galuske 等用光学成像和单细胞记录方法来考

察神经营养素对眼优势柱和方位选择性的作用。其结果比以上单用形态学指标得出的结果要复杂。在靠近灌注区 2.5~ 3.5 mm 范围内, BDNF 使得眼优势柱发生了翻转, 皮质细胞由剥夺眼所支配, 并且失去了方位选择性; 在距离稍远的范围, 皮质神经元可由双眼驱动, 并且保持着方位选择性; 在更远的区域, 细胞由正常眼支配。这表明高浓度的 BDNF 可以使单眼剥夺的效应发生逆转^[19]。

虽然在皮质 2/3 和第 5、6 层已检测到 BDNF 的表达, 但在第 4 层中仍未找到。NT-4 在视皮质神经元上的表达模式尚不清楚。所以, 神经营养素是否直接作用 LGN 轴突仍需有力的证据支持。

2.3 眼优势柱形成的数学模型 基于已有的证据和一些假设, Elliot 等建立了一个眼优势柱的数学模型。该模型认为传入神经末梢竞争突触后靶释放的神经营养素。神经营养素的摄取是传入活动的函数(无直接实验证据), 而神经营养素的摄取量与神经末梢的生长直接相关。该模型很好地模拟了眼优势柱的形成过程^[20]。

2.4 神经营养素对外膝体分层的作用 外膝体的分层与眼优势柱形成类似, 也是双眼活动竞争的结果。神经营养素参与了这一过程。Riddle 等将 NGF、NT-4、NT-3 和 BDNF 分别与荧光乳胶微球(fluorescent latex microsphere)结合, 局部注入单眼剥夺雪貂的视皮质的左、右眼优势柱区域内。微球被神经末梢摄取并逆行运输到外膝体, 从而标记了摄取神经营养素的神经元。通过对正常眼和剥夺眼驱动的外膝体层内神经元胞体大小的分析表明, 只有 NT-4 可以避免单眼剥夺造成的外膝体神经元胞体萎缩, 但它对于正常眼驱动的神经营养素没有作用。而且单眼剥夺数周后再注射 NT-4 也不能起作用。这表明, 皮质内的神经末梢以活动依赖的方式竞争神经营养素, 以支持神经元的生长。局部高浓度的神经营养素使得由剥夺眼驱动的神经营养素也能摄取足够的神经营养^[21]。

3 神经营养素对视觉神经元形态的影响

McAllister 等将各种神经营养素加入离体培养的雪貂视皮质脑片上, 观察了它们对于锥体细胞树突分枝的作用。发现每一层细胞的底树突对特定的神经营养素有最强的反应, 4 层对 BDNF 有最大反应, 5/6 层对 NT-4 有最大反应。而顶树突则对较广泛的神经营养素都有反应。这说明神经营养素对于树突生长的调节是具有特异性的^[22]。

与外源性神经营养素作用类似, 内源性神经营养素也可以刺激树突的生长。并且, 在第 4 层 BDNF 促进神经元生长, 而 NT-3 抑制这种 BDNF 依赖性的生长; 在第 6 层, NT-3 促进树突生长, 而 BDNF 则抑制这种作用^[23]。

神经营养素对细胞生长的作用也依赖于神经活动。在将雪貂视皮质脑片用 BDNF 处理时, 如果同时用 TTX 阻断自发电活动, 或用 APV 阻断谷氨酸能突触传递, 或用硝苯吡啶阻断 L-型钙通道, 都可以阻断 BDNF 对第 4 层锥体神经元的生长促进作用。这表明, 视皮质神经元必须首先是活动的, 才能够响应 BDNF 的生长促进作用^[24]。

4 神经营养素作用机制探讨

以上实验证据表明, 神经营养素确实在视觉系统的活动依赖性的发育过程中发挥重要作用。传统上认为神经营养素由突触后靶细胞释放, 作用于突触前细胞。突触前细胞则以活动依赖性方式竞争有限的神经营养素, 得到营养支持的突触连接被强化, 细胞得以存活、生长; 未能有效地竞争到神经营养素的细胞则被淘汰。而突触前细胞活动又能够刺激突触后的活动, 引起神经营养素的分泌。神经营养素的作用与 LTP 中的“逆行信使”类似^[9, 25]。在发育的大鼠视皮质脑片中也确实证明了 BDNF 参与了 LTP 过程^[26]。但是, 新近的实验表明, 神经营养素的作用机制要复杂得多。

首先, 神经营养素不仅是一个被竞争的对象, 还可以主动地发挥作用。它和神经活动构成了一个复杂的调控网络。一方面, 神经活动调节神经营养素的产生和分泌形式, 活动还决定了神经元对神经营养素的反应特性; 另一方面, 神经营养素也能够主动地引起神经活动以及调节神经元的活动水平^[18, 23]。神经元的活动性是由许多因素精确平衡的。活动性的细微变化就可能引起完全相反的生理过程, 比如从 LTP 变成 LTD。神经营养素在视觉发育中的许多作用, 是它直接或间接地改变了神经元的活动性, 而不是发挥营养支持作用^[19]。

其次, 神经营养素不仅能由突触后细胞分泌, 逆行(retrograde)地发挥作用, 还能够以自分泌(autoocrine)或旁分泌(paracrine)的方式释放。最近在视觉系统中还发现神经营养素可以顺行性(anterograde)地起作用^[27]。

视觉系统的发育是一个复杂的整体过程, 神经营养素与神经活动的作用紧密相关。目前还没有一

个很好的假说能够圆满地解释现有的实验结果。相信随着神经发育研究的不断发展,人们会加深其分子机制的理解。同时,也为神经发育异常及病症治疗提供潜在有价值的思路。

[参考文献]

- [1] Thoenen H. Neurotrophins and neuronal plasticity [J]. *Science*, 1995, 270: 593~ 598
- [2] Lo DC. Neurotrophic factors and synaptic plasticity [J]. *Neuron*, 15: 979~ 981
- [3] Schieh PB, Ghosh A. Neurotrophins: New role for a seasoned cast [J]. *Curr Biol* 1997, 7: R627~ R630
- [4] Schuman EM. Neurotrophin regulation of synaptic transmission [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 1999, 9: 105~ 109
- [5] McAllister AK, Katz LC, Lo DC. Neurotrophins and synaptic plasticity [J]. *Annu Rev Neurosci*, 1999, 22: 295~ 318
- [6] Berninger B, Poo MM. Exciting neurotrophins [J]. *Nature*, 1999, 401: 860~ 863
- [7] Kafitz KW, Rose CR, Thoenen H, *et al* Neurotrophin-evoked rapid excitation through TrkB receptors [J]. *Nature*, 1999, 401: 918~ 921
- [8] Hubel DH, Wiesel TN. The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kitten [J]. *J Physiol*, 1970, 206: 419~ 436
- [9] Bonhoeffer T. Neurotrophins and activity-dependent development of the neocortex [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 1996, 6: 119~ 126
- [10] Lindholm D. Neurotrophic factors and neuronal plasticity: is there a link [J]? *Brain Plasticity Advances Neurobiol*, 1997, 73: 1~ 6
- [11] von Bartheld CS. Neurotrophins in the developing and regenerating visual system [J]. *Histol Histopathol*, 1998, 13: 437~ 459
- [12] Cabelli RJ, Allendoerfer KL, Radeke MJ, *et al* Changing pattern of expression and subcellular localization of TrkB in the developing visual system [J]. *J Neurosci*, 1996, 16: 7965~ 7980
- [13] Bozzi Y, Pizzorusso T, Cremisi F, *et al* Monocular deprivation decrease the expression of messenger RNA for brain-derived neurotrophic factor in the rat visual cortex [J]. *Neurosci*, 1995, 69: 1133~ 1144
- [14] Cellerino A, Maffei L. The action of neurotrophins in the development and plasticity of the visual cortex [J]. *Prog Neurobiol*, 1996, 49: 53~ 71
- [15] Pizzorusso T, Maffei L. Plasticity in the developing visual system [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 1996, 9: 122~ 125
- [16] Cabelli RJ, Hohn A, Shatz CJ. Inhibition of ocular dominance column formation by infusion of NT-4/5 or BDNF [J]. *Science*, 1995, 267: 1662~ 1666
- [17] Cabelli RF, Shelton DL, Segal RA, *et al* Blockade of endogenous ligands of TrkB inhibits formation of ocular dominance columns [J]. *Neuron*, 1997, 19: 63~ 76
- [18] Lein ES, Finney EM, McQuillen PS, *et al* Subplate neuron ablation alters neurotrophin expression and ocular dominance column formation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 13491~ 13495
- [19] Galuske RAW, Kim D-S, Castro E, *et al* Brain-derived neurotrophic factor reverses experience-dependent synaptic modification in kitten visual cortex [J]. *Eur J Neurosci*, 1996, 8: 1554~ 1559
- [20] Elliott T, Shadbolot NR. Competition for neurotrophic factors: Ocular dominance columns [J]. *J Neurosci*, 1998, 18: 5850~ 5858
- [21] Riddle DR, Lo DC, Katz LC. NT-4-mediated rescue of lateral geniculate neurons from effects of monocular deprivation [J]. *Nature*, 1995, 378: 189~ 191
- [22] McAllister AK, Lo DC, Katz LC. Neurotrophins regulate dendritic growth in developing visual cortex [J]. *Neuron*, 1995, 15: 791~ 803
- [23] McAllister AK, Katz LC, Lo DC. Neurotrophins regulation of cortical dendritic growth requires activity [J]. *Neuron*, 1996, 17: 1057~ 1064
- [24] McAllister AK, Katz LC, Lo DC. Opposing roles for endogenous BDNF and NT-3 in regulating cortical dendritic growth [J]. *Neuron*, 1997, 18: 767~ 778
- [25] Ghosh A. Cortical development: With an eye on neurotrophins [J]. *Curr Biol*, 1996, 6: 130~ 133
- [26] Akaneva Y, Tsumoto T, Kinoshita S, *et al* Brain-derived neurotrophic factor enhances long-term potentiation in rat visual cortex [J]. *J Neurosci*, 1997, 17: 6707~ 6716
- [27] Von Bartheld CS, Byers MR, Williams R, *et al* Anterograde transport of neurotrophins and axodendritic transfer in the developing visual system [J]. *Nature*, 1996, 379: 830~ 833