

文章编号:1003-2754(2019)04-0380-03

中图分类号:R741

神经丝轻链蛋白与神经系统疾病

张 群¹, 林思睿¹, 吴琼英² 综述, 吴巧凤¹, 谢璐霜¹ 审校**关键词:** 神经丝; 神经丝轻链; 阿尔茨海默病; 帕金森病; 多发性硬化

神经丝蛋白(Neurofilaments, NF)是构成神经元轴突中间纤维的特异性分子蛋白,是神经元细胞骨架的重要成分,主要定位在成熟神经元的胞体和突起中,负责轴浆运输,维持神经元正常形态及保持神经纤维的弹性,防止断裂^[1,2],典型的神经丝纤维长10 nm,可增加轴突的直径,提高轴突的脉冲传导速度,其在轴突中呈平行排列,在胞体中则是随机的,在轴突的运输过程中神经丝蛋白会发生磷酸化与去磷酸化,以此进行自我更新,表明磷酸化对神经丝的生理功能有重要影响^[3,4]。

NF包括神经丝三联蛋白(Neurofilament triplet proteins)、 α -内切蛋白(α -internexin)、Ⅲ型外周蛋白(Type Ⅲ peripherin),研究发现 α -内切蛋白的表达早于神经丝三联蛋白,且在出生后保持较低的水平,而神经丝三联蛋白表达则是升高的,在成人周围及中枢神经系统中神经丝三联蛋白与Ⅲ型外周蛋白共表达^[2]。神经丝三联蛋白由神经丝轻链(Neurofilament light, NfL)、神经丝中链(neurofilament middle, NfM)、神经丝重链(neurofilament heavy, NfH)构成,由于NfM和NfH的C端分别有483和676个氨基酸,因此NfL的分子量远远小于NfM和NfH,而在轴突定向生长时于NfL和NfM而言,NfH表达却相对延迟^[3]。

NfL被认为是神经丝三联蛋白中最重要的一部分,因为NfL是唯一可以自我组装成功能性纤维的神经丝蛋白,而神经丝中链和重链蛋白则不能,而且NfL的异常表达及人类NfL基因的突变均会引起多种疾病的发生^[5],大量临床及实验研究指出在多种疾病神经系统的发生、发展过程中NfL的改变更为显著,提示NfL是神经元与轴突损伤的分子标志物,对临床多种疾病的诊断及预后判断有重要指导意义,因此本文主要对NfL在以神经元受损为主的多种神经系统疾病中的变化进行整理和总结。

1 NfL与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)

目前临床研究发现AD患者脑脊液与尿液中NfL水平是升高的,NfL可作为AD的辅助诊断标记物;横断面研究结果表明在症状出现之前,家族性老年痴呆患者血清中NfL浓度是增加的;在阿尔茨海默病和血管性痴呆患者中也发现NfL水平均升高,并且NfL水平与疾病进程呈正相关,血清中NfL可能是早期AD相关神经变性的标志物^[6,7],具体是哪类神经丝蛋白改变研究并未明确指出。唐氏综合征(Down syn-

drome, DS)是AD的基因遗传形式,存活的患者常在30岁以后出现老年性痴呆症状,最近100例DS成年患者血液中NfL浓度与年龄相关分析研究显示在40岁之后NfL浓度是急剧增加的,而且伴痴呆症状的DS患者其NfL水平升高更为显著^[8];实验研究结果显示敲掉NfL的APP/PS1转基因小鼠会出现新皮下淀粉样斑块沉积、突触易损性增加、小胶质细胞增生等病理变化^[9],提示NfL在保护轴突运输功能与调节Ab斑块形成途径中发挥重要作用,另一研究指出缺乏NfL虽然会影响骨架蛋白的表达,但不会引起皮质神经元发生严重的结构改变,这可能与其它骨架蛋白的补偿有关^[10],但相关补偿机制并不明确。细胞培养发现IL-1b能诱导原代神经元NfL及其72 h内mRNA的表达增加^[11],表明AD中公认的神经炎症可能诱导NfL功能失调,进而加重神经元功能紊乱。反应性DNA连接蛋白43(Transactive response DNA-binding protein 43, TDP-43)是NfL mRNA的结合蛋白,研究发现与6周龄C57相比,敲掉NfL的12月龄小鼠其皮质和髓髓中TDP-43表达水平明显增加,但研究人员指出与衰老高度相关的是TDP-43的磷酸化水平而非TDP-43本身的表达^[12]。实验研究指出驱动蛋白1(Kinesin1)与神经丝蛋白均参与神经元轴突的运输,而且随着年龄增长,APP/PS1转基因小鼠皮质中kinesin1和神经丝蛋白表达下降,导致APP蛋白运输障碍,进而导致脑内A β 的沉积,破坏神经元正常功能,加重AD的病理改变^[13]。学者认为轴突损伤时NfL释放到间质中,并在血液样本中可以检测到升高的NfL,但研究指出血脑屏障功能障碍不是阿尔茨海默病本身所固有的,可能伴随脑血管病变^[14],提示血液中升高的NfL可能与脑血管病变有关。

2 NfL与运动神经元疾病

肌萎缩侧索硬化症(Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)属于运动神经元疾病中的一种,是一种慢性、进行性疾病,以全身多处肌肉逐渐无力和萎缩为主要临床表现,Meta分析表明ALS患者脑脊液与血液中NfL含量均明显高于健康人群,最

收稿日期:2018-12-08;修订日期:2019-01-29

基金项目:国家自然科学基金(No. 81873386, No. 81704160)

作者单位:(1. 成都中医药大学针灸推拿学院,四川 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院检验科,四川 成都 610075)

通讯作者:谢璐霜, E-mail: xielushuang@cdutcm.edu.cn

近相关研究结果显示 NfL 也有相同的改变^[15],表明 NfL 对肌萎缩侧索硬化症的诊断和预后具有重要价值。另外,临床多中心研究结果也提示 ALS 患者脑脊液中磷酸化的神经丝重链蛋白(pNfH)水平高于健康对照组和非 ALS 患者^[16]。研究指出 NfL 聚集不仅是散发性或家族性 ALS 的分子标志物,而且 NfL 聚集可能会引起一些突变且不稳定的蛋白堆积,引发运动神经元受损和退化,如超氧化物歧化酶 1 (Superoxide dismutase-1, SOD1) 突变不但会改变 NfL mRNA 的稳定性^[17],而且在脊髓运动神经元中还会形成胞浆包涵体,导致神经元发生病变^[18]。此外,实验研究发现 SOD1 突变的 ALS 小鼠 DRG 神经元中存在外周蛋白 56 (Peripherin56, P56) 的神经毒性剪接变体的聚集,这些变体能裂解 NfL 和 NfM 从而导致轴突应激反应^[19],参与 ALS 发病过程。

3 NfL 与帕金森病 (Parkinson disease, PD)

帕金森病是一种常见的神经系统变性疾病,以黑质中多巴胺能神经元进行性丢失为主要病理改变,临床上多种神经系统疾病与帕金森病症状存在很多相似之处,准确诊断该病具有较大难度。多个临床研究结果显示帕金森病患者脑脊液与血液中 NfL 蛋白浓度与正常人相似,而在非典型帕金森病中如多系统萎缩、进行性核上性麻痹等疾病中却是明显升高的^[20],Meta 分析结果也表明帕金森病患者脑脊液 NfL 与多系统萎缩中普遍升高现象是相矛盾的^[21],这提示 NfL 在区别帕金森病和非典型帕金森病时有高度准确信。相关文献报道 α -突触核蛋白(α -synuclein)基因参与 PD 的发病,作为路易小体主要病理成分的 α -突触核蛋白在神经元胞浆中异常聚集,错误折叠与纤维化,进而引发黑质纹状体中多巴胺能神经元死亡^[22],导致帕金森病的发生,且研究发现 α -突触核蛋白能抑制磷酸酯酶 D1 (Phospholipase D1, PLD1) 的表达,从而引起 NfL 网络结构改变、表达下降和 F-肌动蛋白重分布^[23],导致神经元功能紊乱与障碍,提示 NfL 结构改变及表达下降可能参与神经变性的发生。

4 NfL 与脱髓鞘疾病

多发性硬化 (Multiple sclerosis, MS) 是发生在中枢神经系统的一种慢性、炎性脱髓鞘疾病,主要病理改变为不可逆的轴索受损与神经元丢失。目前研究显示 NfL 是 MS 中轴索损伤的生物标志物,轴索损伤时脑脊液和血清中 NfL 均有升高现象,与健康对照组相比,进行性多发性硬化与复发-缓解型多发性硬化患者血清中 NfL 水平是普遍升高的,而且其血液与脑脊液中 NfL 之间有较强关联性,在用免疫抑制剂芬戈莫德 (fingolimod) 后受试者血清 NfL 下调^[24],提示 NfL 水平可作为 MS 治疗效应的一个观察指标。多项研究指出血清分析 NfL 可能成为检测该病的便捷方式,可监测复发-缓解型多发性硬化疾病的活跃程度,但有学者认为临床实践中 NfL 可否作为疾病活动度指标需要更多的前瞻性研究以及较长随访期来确定^[25]。近来有文献报道脑脊液中低水平的 Ab

是本疾病进展的预测标志物,而 NfL 水平则无统计学差异^[26],这与前面提到的 AD 中 Ab 沉积导致 NfL 上调这一发现是相互矛盾的,两者之间是否有内在的机制或更深层的含义有待探讨。实验研究指出 P25 基因参与了包括 MS 在内的各种神经退行性疾病,并且在 P25 转基因鼠皮质和海马中发现大量神经元丢失,敲掉 P25 后脑脊液与血清中 NfL 水平下降^[27],但具体机制仍不明确。

5 NfL 与创伤性脑损伤

弥漫性轴索损伤 (diffuse axonal injury, DAI) 是颅脑遭受外力作用后发生的一种原发性的大脑实质损伤,以白质、轴索受损为主要病理改变,病情危重,病死率极高,预后较差。一项 95 例 DAI 患者参与的临床研究显示在脑损伤后 6 h NfL 是明显升高的,脑损伤后 7 d 内,其血清中 NfL 的浓度仍高于正常对照组^[28],并且 NfL 浓度与 DAI 时脑组织、神经元、血脑屏障的损伤程度有相关性,提示 NfL 对 DAI 的早期诊断及预后评估具有重要价值。实验研究发现损伤后 24 h 内模型动物有典型的轴索损伤改变,脑干阳性蛋白表达升高,并且 NfL 水平与恢复期大鼠的学习记忆能力呈负相关^[29],揭示神经丝轻链蛋白可以作为脑受损后动物学习记忆能力判断的潜在指标。

6 展望

第一,目前研究显示在多数神经受损性疾病中 NfL 浓度是升高的,如阿尔茨海默病、多发性硬化等,但在帕金森病中却发现其浓度改变不显著,两者之间具体机制是怎样的有待进一步研究;第二,NfL 水平上调引发的后续生理及病理效应及是否存在潜在的启动机制或关键的调控靶点目前仍不清楚;第三,NfL 是多种神经系统疾病的潜在生物标志物,其在正常人中的具体含量是多少,能否作为某种特定疾病的特异性标志物,诊断疾病时的具体临界值能否确定是未来研究的方向。

【参考文献】

- [1] Kuskuley J, Chan WK, Lee S, et al. Neurofilament cross-bridging competes with kinesin-dependent association of neurofilaments with microtubules[J]. J Cell Sci, 2009, 122(19):3579-3586.
- [2] Laser-Azogui A, Kornreich M, Malka-Gibor E, et al. Neurofilament assembly and function during neuronal development[J]. Curr Opin Cell Biol, 2015, 32:92-101.
- [3] 佟向军, 陈建国, 刘洁, 等. 神经丝的体外组装与结构分析[J]. 电子显微学报, 1998, 17(4):359-360.
- [4] de Waegh SM, Lee VM, Brady ST. Local modulation of neurofilament phosphorylation, axonal caliber, and slow axonal transport by myelinating Schwann cells[J]. Cell, 1992, 68(3):451-463.
- [5] 罗巍, 唐北沙, 赵国华, 等. 神经丝轻链基因在腓骨肌萎缩症中的突变分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2003, 20(2):85-86.
- [6] Skillback T, Farahmand B, Bartlett JW, et al. CSF neurofilament light differs in neurodegenerative diseases and predicts severity and survival

- [J]. *Neurology*, 2014, 83(21):1945-1953.
- [7] Weston PSJ, Poole T, Ryan NS, et al. Serum neurofilament light in familial Alzheimer disease; A marker of early neurodegeneration[J]. *Neurology*, 2017, 89(21):2167-2175.
- [8] Strydom A, Heslegrave A, Startin CM, et al. Neurofilament light as a blood biomarker for neurodegeneration in Down syndrome[J]. *Alzheimers Research & Therapy*, 2018, 10(1):39.
- [9] Fernandez-Martos CM, King AE, Atkinson RA, et al. Neurofilament light gene deletion exacerbates amyloid, dystrophic neurite, and synaptic pathology in the APP/PS1 transgenic model of Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36(10):2757-2767.
- [10] Liu Y, Staal JA, Canty AJ, et al. Cytoskeletal changes during development and aging in the cortex of neurofilament light protein knockout mice[J]. *J Comp Neurol*, 2013, 521(8):1817-1827.
- [11] Rempel H, Kusdra L, Pulliam L. Interleukin-1 β up-regulates expression of neurofilament light in human neuronal cells[J]. *J Neurochem*, 2001, 78(3):640-645.
- [12] Liu Y, Atkinson RA, Fernandez-Martos CM, et al. Changes in TDP-43 expression in development, aging, and in the neurofilament light protein knockout mouse[J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36(2):1151-1159.
- [13] 王倩. APP/PS1 转基因小鼠的轴浆运输及其阿尔茨海默病发病机制[D]. 河南大学, 2017.
- [14] Skillbeck T, Delsing L, Synnergren J, et al. CSF/serum albumin ratio in dementias; a cross-sectional study on 1861 patients[J]. *Neurobiol Aging*, 2017, 59:1-9.
- [15] Gille B, De Schaepdryver M, Goossens J. Serum neurofilament light chain levels as a marker of upper motor neuron degeneration in patients with amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018. doi:10.1111/nan.12511.
- [16] Oeckl P, Jarde C, Salachas F, et al. Multicenter validation of CSF neurofilaments as diagnostic biomarkers for ALS[J]. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2016, 17(5):404-413.
- [17] Ge WW, Wen W, Strong W, et al. Mutant copper-zinc superoxide dismutase binds to and destabilizes human low molecular weight neurofilament mRNA[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(1):118-124.
- [18] Keller BA, Volkening K, Droppelmann CA, et al. Co-aggregation of RNA binding proteins in ALS spinal motor neurons; evidence of a common pathogenic mechanism[J]. *Acta Neuropathol*, 2012, 124(5):733-747.
- [19] Sassone J, Taiana M, Lombardi R, et al. ALS mouse model SOD1G93A displays early pathology of sensory small fibers associated to accumulation of a neurotoxic splice variant of peripherin[J]. *Hum Mol Genet*, 2016, 25(8):1588-1599.
- [20] Hansson O, Janelidze S, Hall S, et al. Blood-based NFL; A biomarker for differential diagnosis of parkinsonian disorder[J]. *Neurology*, 2017, 88(10):930-937.
- [21] Hu X, Yang Y, Gong D. Cerebrospinal fluid levels of neurofilament light chain in multiple system atrophy relative to Parkinson's disease; a meta-analysis[J]. *Neurol Sci*, 2017, 38(3):407-414.
- [22] 陈宗元, 黄春丽, 官检发, 等. 帕金森病的流行病学、发病机制及药物的研究进展[J]. *海峡药学*, 2018, 30(3):48-50.
- [23] Conde MA, Alza NP, Iglesias Gonzalez PA, et al. Phospholipase D1 downregulation by α -synuclein; Implications for neurodegeneration in Parkinson's disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1863(6):639-650.
- [24] Piehl F, Kockum I, Khademi M, et al. Plasma neurofilament light chain levels in patients with MS switching from injectable therapies to fingolimod[J]. *Mult Scler*, 2018, 24(8):1046-1054.
- [25] Varhaug KN, Barro C, Bjørnevik K, et al. Neurofilament light chain predicts disease activity in relapsing-remitting MS[J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2017, 5(1):e422.
- [26] Pietroboni AM, Caprioli M, Carandini T, et al. CSF β -amyloid predicts prognosis in patients with multiple sclerosis[J]. *Mult Scler*, 2018, 7:1352458518791709. doi:10.1177/1352458518791709.
- [27] Brureau A, Blanchard-Bregeon V, Pech C, et al. NF-L in cerebrospinal fluid and serum is a biomarker of neuronal damage in an inducible mouse model of neurodegeneration[J]. *Neurobiol Dis*, 2017, 104:73-84.
- [28] 史立信, 胡福广, 顾春雷, 等. 弥漫性轴索损伤患者的血清 NF-L 表达变化[J]. *神经损伤与功能重建*, 2016, 11(4):318-320.
- [29] 向玲, 张雨婷, 韦红, 等. β -APP 和 NF-L 在评估弥漫性轴索损伤大鼠损伤程度中的价值[J]. *第三军医大学学报*, 2015, 37(22):2255-2260.