

基于 Wnt/ β -catenin 信号通路的髓鞘发育及再生研究进展

孙 莹 梁晓春 宋 玮

摘 要 髓鞘的主要功能是维持神经的正常传导,在神经系统中发挥着重要的保护作用。Wnt/ β -catenin 信号通路在细胞的增殖、分化、迁移、凋亡等过程中均发挥着重要作用,也是影响髓鞘发育和再生的关键信号通路之一。多数研究认为,对于中枢神经系统,该通路的激活促进了髓鞘的发育和再生,但目前仍存在一些争议。在外周神经系统中,普遍认为该信号通路的激活可促进髓鞘的发育及神经再生。本文针对近年来基于 Wnt/ β -catenin 信号通路的神经髓鞘发育及再生相关研究,综述了该通路在髓鞘发育和再生过程中的调节机制。

关键词 Wnt/ β -catenin 信号通路 髓鞘发育 髓鞘再生 中枢神经系统 周围神经系统

中图分类号 R745.4

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.09.006

髓鞘作为有髓神经的基本结构,使神经外部的复杂环境与神经内部的轴突隔离、绝缘开来,从而保证神经冲动的快速、跳跃式传导,同时也对神经元轴突起到营养、支持等作用,对于维持有髓神经纤维的正常功能、促进神经再生具有重要意义。髓鞘发育不全或髓鞘脱失会直接导致神经结构损伤和功能失常,髓鞘的完整性保证了神经在损伤后的修复和再生^[1]。Wnt/ β -catenin 信号通路又称经典 Wnt 信号通路,细胞的增殖、分化、凋亡和迁移等都受到 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响,涉及到胚胎发育、组织稳态、肿瘤形成等多种生物学过程^[2,3]。越来越多的研究表明,Wnt/ β -catenin 信号通路也是神经髓鞘发育及再生过程中的关键调控环节。因此,本文综述了近年来关于该信号通路在髓鞘发育和再生中的作用的研究进展。

一、Wnt/ β -catenin 信号通路概况

Wnt 信号通路家族作为一个极为复杂的信号网络,是控制细胞命运的基础通路,对于维持组织发育的内稳态具有重要作用。Nusslein-Volhard 等^[2]早在 1980 年便发现 int-1 基因片段出现在果蝇的突变基因中,Nusse 等^[3]又在 1991 年把 wingless 和 int 合并称为 Wnt,也就是目前 Wnt 细胞外配体的统称。至

今,共有 4 条 Wnt 通路被发现,其中研究最为广泛的 Wnt/ β -catenin 信号通路也被成为经典 Wnt 通路。Wnt/ β -catenin 信号通路存在抑制(off)和激活(on)两种状态。在缺少 Wnt 配体时,Wnt/ β -catenin 通路处于抑制状态。此时, β -连环蛋白(β -catenin)和细胞表面的 E-钙黏蛋白发生反应,形成稳定复合物并黏着细胞。APC, axin2, GSK-3 β 等蛋白则与进入细胞内部的 β -catenin 形成复合物, β -catenin 继而通过泛素化和磷酸化后被降解。在细胞核内,转录因子 TCF 的抑制蛋白与 TCF 呈结合状态,从而抑制目标基因的转录和表达。而当源于旁分泌的 Wnt 配体与细胞表面的 Frizzled 受体特异性地结合后,相邻的 LRP5/6 家族蛋白亦会被激活,Wnt/ β -catenin 信号通路进入激活状态。一旦 Wnt/ β -catenin 通路被激活,细胞内游离的 β -catenin 含量上升并在细胞核内积累,与 TCF/LEF 家族转录因子形成复合物以激活 Wnt 靶基因的转录^[3]。虽然 Wnt 信号通路是一个进化相对保守的信号途径,但 2019 年一项研究发现,在经典 Wnt 信号途径中一部分 β -catenin 能够不依赖 TCF/LEF 转录因子而发挥转录活性,调控靶基因表达^[4]。

二、Wnt/ β -catenin 信号通路在中枢神经髓鞘发育及再生中的作用

少突胶质细胞(oligodendrocyte)是形成中枢神经系统髓鞘的主要来源,经少突胶质细胞祖细胞、少突胶质细胞前体细胞等阶段发育成熟,排列于有髓神经纤维之间^[5]。研究发现,Wnt 信号通路(尤其是 Wnt/

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81473639)

作者单位:100730 中国医学科学院/北京协和医学院北京协和医院中医科、协和转化医学中心

通讯作者:梁晓春,教授,博士生导师,电子信箱:xcliang@sina.vip.com

β -catenin 信号通路)是中枢神经髓鞘中细胞增殖、分化、成熟等关键环节的重要通路^[6,7]。但是,对于 Wnt/ β -catenin 通路的激活究竟是抑制还是促进了中枢神经髓鞘的发育和再生,不同研究得到的主要结论不尽相同,以下分别进行阐述。

1. 抑制作用:2009 年,Fancy 等^[8]在少突胶质细胞系和多发硬化小鼠中均发现, β -catenin 的核膜受体 TCF4/TCF7L2 的表达量升高时,少突胶质前体细胞的分化减少,从而推测 Wnt/ β -catenin 通路的激活会抑制髓鞘的发育。进而该研究团队分别在新生小鼠和成年脱髓鞘小鼠的中枢神经系统中,通过促进 β -catenin 的磷酸化降解从而抑制 Wnt/ β -catenin 通路,结果发现少突胶质前体细胞的分化能力显著增强。对于 β -catenin 高表达的转基因小鼠,其中枢神经的轴索直径显著小于正常组小鼠,上述结果均表明该通路的激活抑制了中枢神经髓鞘的发育和再生^[9]。随后,Feigenson 等^[10]和 Lee 等^[11]先后通过体外实验发现,当加入 Wnt/ β -catenin 信号通路配体 Wnt3a 的激动剂后,少突胶质前体细胞分化的 GalC⁺及碱性髓鞘蛋白的含量均明显减少;而抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路,则可促进少突胶质前体细胞的分化,从而促进中枢神经髓鞘的再生。Preisner 等^[12]也通过体外研究中发现,当少突胶质细胞及其前体细胞中的 GSK-3 β 表达受到抑制后,24h 内该细胞的增殖和分化明显增多,但是实验进行 48h 后,对照组和实验组的数据基本持平。Yuen 等^[13]的研究也得出了一致的结论,即 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活对少突胶质前体细胞的分化和成熟具有抑制作用。

2. 促进作用:后续更多研究与以上几项研究得到的结论相反,认为 Wnt/ β -catenin 信号通路被激活反而能够促进少突胶质细胞的增殖、分化。例如,Lie 等^[14]发表在《Nature》上的一项研究认为,Wnt/ β -catenin 信号通路在成年哺乳动物中枢神经系统中海马神经元(adult hippocampal stem/progenitor cells, AHPs)的生成过程中发挥重要的调控作用。该团队通过体内实验验证了 Wnt3 蛋白的过表达会激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,继而促进 AHPs 的神经再生;破坏 Wnt/ β -catenin 通路的信号转导则几乎彻底阻断了 AHPs 的再生。在体外模型中,破坏该通路的信号转导亦会显著降低 AHPs 的生成。此外,Ortega 等^[15]通过连续实时成像和单细胞追踪等技术发现,在成年大鼠的中枢神经系统中,少突胶质前体细胞及处于早期的少突胶质细胞的增殖会随着 Wnt/

β -catenin 信号通路的激活而增强。随后的体外实验也进一步验证了这一结果,向少突胶质细胞系中添加 Wnt1 和 Wnt3a 配体以激活该通路后,少突胶质前体细胞和早期少突胶质细胞的数目显著增加,细胞增殖能力增强;反之,抑制 β -catenin 的表达以抑制 Wnt/ β -catenin 通路后,细胞增殖速率降低。

3. 时间及空间特异性:也有一些研究对上述不同的结论进行了进一步阐释,认为 Wnt/ β -catenin 通路的激活对于中枢神经髓鞘发育再生的促进作用,或与细胞所在的特定生命周期相关。例如,Hammond 等^[16]研究发现,少突胶质细胞中 β -catenin 的核膜受体基因 TCF2L7 在细胞的有丝分裂后期会出现瞬时上调表达。该团队也进一步采用 TCF2L7 基因敲除小鼠验证了 TCF2L7 正向作用于 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进少突胶质细胞增殖和分化,从而促进新生小鼠的髓鞘生成。但该研究认为,TCF2L7 基因的作用主要是通过促进少突胶质细胞的分化而促进髓鞘生成;而在少突胶质前体细胞中,TCF2L7 并没有起到正向调节作用,即该基因的作用与细胞所处生命周期密切相关。不过,Hammond 等^[16]同时发现,敲除 APC 基因继而使 TCF2L7 基因的表达量下降后,Axin2、 β -catenin 等来自该信号通路家族的其他蛋白表达出现上调。因此,该研究提出 TCF2L7 的表达水平并不能作为髓鞘再生和发育的判断依据,从而解释了 Fancy 团队所得的相反结论^[8,9]。此外,Fu 等^[17]在病毒诱导的人脑神经脱髓鞘组织中发现了 TCF2L7 表达上调的现象,表明 Wnt/ β -catenin 通路被激活。但该研究认为这一现象并不能证明该通路激活与脑组织脱髓鞘的因果关系。因为进一步研究发现,只有在髓鞘脱失部位,TCF2L7 才呈现出高表达,而这些脱失部位的髓鞘再生活跃,这也可能是 TCF2L7 上调、Wnt/ β -catenin 通路激活所带来的结果^[18]。

三、Wnt/ β -catenin 信号通路在外周神经系统髓鞘发育及再生中的作用

施万细胞(Schwann's cell)是外周神经系统中有髓神经髓鞘的主要来源,可表达分泌具有调节生长能力的髓磷脂蛋白,其中最为常见的包括外周髓鞘蛋白 0(myelin protein zero, MPZ)和外周髓鞘蛋白 22(peripheral myelin protein 22, PMP22)。Garbay 等^[19]的研究表明,啮齿动物出生后的 21 天内,MPZ 和 PMP22 呈高表达;21 天后,随着髓鞘的发育基本结束,这两种蛋白随之转为低表达。而一旦外周神经发生损伤、髓鞘发生脱失时,施万细胞开始进行增殖,随

后进行分化,不断对轴突进行包围,最终可以得到新髓鞘^[6]。此时 MPZ 及 PMP22 的蛋白表达量又呈上升趋势。因此这两种蛋白常作为评价周围神经生长及修复情况的标志性蛋白。

目前多数研究认为,Wnt/ β -catenin 信号通路的激活是促进周围神经生长发育的重要因素之一。Tawak^等^[20]研究认为 Wnt/ β -catenin 通路的激活在外周有髓神经的髓鞘发育过程中也起到了重要的促进作用。首先,该团队发现 Wnt 通路相关基因在小鼠原代施万细胞中和在施万细胞系中的表达量与 MPZ 和 PMP22 表达量呈正相关。其次,在新生小鼠的坐骨神经组织中也观察到了类似现象:神经发育的初期,与 β -catenin 结合的 T 细胞因子(T-cell factor,TCF)的不同亚型 TCF1、TCF3、TCF4 等都在小鼠出生第 6 天时表达量升高,出生后 20 天达到峰值,而此过程中 MPZ 及 PMP22 的表达也相应升高。最后,在小鼠施万细胞系中, β -catenin 基因的激活可使 PMP22 的表达量增加 5 倍之多;而该基因被敲除后,PMP22 的表达量仅为此前的 20%。另外,Shackelford^等^[21]研究发现,羟化胆固醇可以通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路而影响施万细胞的增殖和分化,从而抑制周围神经髓鞘的再生。上述研究均表明,Wnt/ β -catenin 信号通路的激活可以促进外周神经系统有髓神经的髓鞘发育。

四、展 望

在髓鞘发育和再生领域,Wnt/ β -catenin 信号通路的重要作用备受关注。然而,对于该通路的激活究竟如何影响髓鞘的发育和再生过程,特别是对于中枢神经系统,现有研究结果并不完全统一。但实际上,髓鞘组织不仅需要在胚胎发育阶段发展成形,在成体阶段还需要有效地维持组织稳态平衡,处于动态循环之中。综合研究现状,笔者认为,未来的相关研究可重点从以下两方面进行考量。

首先,现有研究表明, β -catenin 及其受体的表达量在不同周期的施万细胞中以及在不同状态下(正常/髓鞘脱失)的神经组织中具有显著差异。这些结果说明,Wnt/ β -catenin 信号通路在髓鞘发育或再生中的具体调控作用,可能会根据细胞或生命体的不同周期或不同状态而有所不同。如前所述,外周神经系统的髓鞘生成过程及髓鞘受到损伤后的修复过程中,Wnt/ β -catenin 信号通路被激活,其他情况下则处于抑制状态。而在中枢神经系统中,Wnt/ β -catenin 通路中关键蛋白在髓鞘发育的不同阶段中的

动态变化规律,目前尚未见全面报道。尽管以往一些报道认为中枢神经系统中髓鞘的生成会被 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活而抑制,但这一结论主要是基于新生髓鞘和新生动物模型得出的。而另外一部分研究者认为该通路的激活促进了髓鞘再生,这一结论则大多是基于成年动物模型得出的。因此 Wnt/ β -catenin 通路的作用及髓鞘生长机制在动物的不同生长阶段也可能存在差异,有待于深入研究。

其次,尽管多种模式生物的研究均证实了 Wnt 通路对组织器官发育和再生的重要调控作用,但 Wnt 信号通路及其复杂,Wnt/ β -catenin 只是 Wnt 信号通路的一部分,非经典 Wnt 通路的调控涉及多个复杂的细胞系统迁移。除 Wnt/ β -catenin 通路外,Wnt 家族的其他通路也可能对轴突、树突、突触的生长发育过程进行调控。例如,目前已鉴定的 Wnt 配体有近 20 种,与 β -catenin 结合的 TCFT 受体也有不同表型,Wnt 通路家族中不同成员对髓鞘发育的作用可能不同,且相互之间具有一定影响。TCF2L7 只是 β -catenin 与 TCF 结合的一个亚型, β -catenin 除与 TCF2L7 结合抑制少突胶质细胞分化外,还可能与 TCF 的其他亚型结合,进而影响少突胶质细胞的生长分化。目前无论是中枢神经系统还是周围神经系统中髓鞘发育和再生的研究,大多仅涉及了部分 Wnt 配体和 TCF 中的个别亚型。未来研究可借助转录组学、蛋白质组学等高通量技术手段,从纵向(髓鞘的不同发育阶段)和横向(不同状态下的髓鞘组织)两个维度开展研究,更为全面地评估 Wnt/ β -catenin 通路及 Wnt 家族的其他通路对中枢神经及外周神经中髓鞘发育和再生过程的调控机制。

参考文献

- 1 You YY, Joseph C, Wang CY, *et al.* Demyelination precedes axonal loss in the transneuronal spread of human neurodegenerative disease [J]. *Brain*, 2019, 142(2): 426-442
- 2 Nusslein-Volhard C, Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila* [J]. *Nature*, 1980, 287(5785): 795-801
- 3 Nusse R, Brown A, Papkoff J, *et al.* A new nomenclature for int-1 and related genes: the Wnt gene family [J]. *Cell*, 1991, 64(2): 231
- 4 Doumpas N, Lampart F, Robinson MD, *et al.* TCF/LEF dependent and independent transcriptional regulation of Wnt/ β -catenin target genes [J]. *EMBO J*, 2019, 38(2): e98873
- 5 Lloyd AF, Miron VE. The pro-remyelination properties of microglia in the central nervous system [J]. *Nat Rev Neurol*, 2019, 15(8): 447-458

(下转第 35 页)

表达比较,差异有统计学意义,低分化 MPM 的 SMRP 表达高,分化程度代表肿瘤细胞的异质性,与正常胸膜细胞之间的差异越大,恶性程度也越高,说明 SMRP 表达可间接反映 MPM 的恶性程度,同时也可能提示根据 SMRP 表达情况判断预后具有可行性。但本研究是针对大鼠 MPM,其研究结果尚不能用于人类 MPM,下一步将对 MPM 患者血清中的 SMRP 表达进行分析。

综上所述,SMRP 可反映肿瘤分期,根据血清 SMRP 表达量可判断 MPM 分期,为具有石棉暴露史的高危人群早期筛查、诊断 MPM 提供理论依据及实验基础。

参考文献

- 1 Pass HI, Vogelzang N, Hahn S, *et al.* Malignant pleural mesothelioma[J]. *Curr Probl Cancer*, 2004, 28(3): 93-174
- 2 Van Schil P, Van Meerbeeck J. Malignant pleural and peritoneal mesothelioma: clinical update 2018[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2018, 7(5): 505-506
- 3 韩丹,何波,廖承德. 实验性大鼠恶性胸膜间皮瘤的 CT 表现与病理对照研究[J]. *临床放射学杂志*, 2008, 27(4): 547-550
- 4 Hassan R, Remaley AT, Sampson ML, *et al.* Detection and quantification of serum mesothelin, a tumor marker for patients with mesothelioma and ovarian cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(2): 447-453
- 5 Demir M, Kaya H, Taylan M, *et al.* Evaluation of new biomarkers in the prediction of malignant mesothelioma in subjects with environmental asbestos exposure[J]. *Lung*, 2016, 194(3): 409-417
- 6 Mundt F, Nilsson G, Arslan S, *et al.* Hyaluronan and N-ERC/mesothelin as key biomarkers in a specific two-step model to predict

- pleural malignant mesothelioma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72030-72041
- 7 Ho M, Hassan R, Zhang J, *et al.* Humoral immune response to mesothelin in mesothelioma and ovarian cancer patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(10): 3814-3820
- 8 Berzenji L, Van Schil PE, Carp L. The eighth TNM classification for malignant pleural mesothelioma[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2018, 7(5): 543-549
- 9 Chapman A, Mulrennan S, Ladd B, *et al.* Population based epidemiology and prognosis of mesothelioma in Leeds, UK [J]. *Thorax*, 2008, 63(5): 435-439
- 10 Ledda C, Senia P, Rapisarda V. Biomarkers for early diagnosis and prognosis of malignant pleural mesothelioma: the quest goes on[J]. *Cancers*, 2018, 10(6): 203-215
- 11 Scherperreel A, Grigoriu B, Conti M, *et al.* Soluble mesothelin-related peptides in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 173(10): 1155-1160
- 12 Arnold DT, Fonseca DD, Hamilton FW, *et al.* Prognostication and monitoring of mesothelioma using biomarkers: a systematic review [J]. *Br J Cancer*, 2017, 116(6): 731-741
- 13 Bonomi M, De Filippis C, Lopci E, *et al.* Clinical staging of malignant pleural mesothelioma: current perspectives [J]. *Lung Cancer: Targets and Therapy*, 2017, 8(8): 127-139
- 14 Linch M, Gennatas S, Kazikin S, *et al.* A serum mesothelin level is a prognostic indicator for patients with malignant mesothelioma in routine clinical practice[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(9): 674-680
- 15 Hollevoet K, Reitsma JB, Creaney J, *et al.* Serum mesothelin for diagnosing malignant pleural mesothelioma: an individual patient data meta-analysis[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(13): 1541-1549
- 16 Saeki H, Hashizume A, Izumi H, *et al.* The utility of serum N-ERC/mesothelin as a biomarker of ovarian carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2012, 4(4): 637-641

(收稿日期: 2020-04-07)

(修回日期: 2020-04-11)

(上接第 26 页)

- 6 Kremer D, Akkermann R, Kury P, *et al.* Current advancements in promoting remyelination in multiple sclerosis[J]. *Mult Scler J*, 2019, 25(1): 7-14
- 7 Guo F, Lang J, Sohn J, *et al.* Canonical Wnt signaling in the oligodendroglial lineage—puzzles remain [J]. *Glia*, 2015, 63(10): 1671-1693
- 8 Fancy SP, Baranzini SE, Zhao C, *et al.* Dysregulation of the Wnt pathway inhibits timely myelination and remyelination in the mammalian CNS[J]. *Gene Dev*, 2009, 23(13): 1571-1585
- 9 Fancy SP, Harrington EP, Yuen TJ, *et al.* Axin2 as regulatory and therapeutic target in newborn brain injury and remyelination[J]. *Nat Neurosci*, 2011, 14(8): 1009-1016
- 10 Feigenson K, Reid M, See J, *et al.* Canonical Wnt signalling requires the BMP pathway to inhibit oligodendrocyte maturation[J]. *ASN Neuro*, 2011, 3(3): e00061
- 11 Lee HK, Chaboub LS, Zhu W, *et al.* Daam2-PIP5K is a regulatory pathway for Wnt signaling and therapeutic target for remyelination in the CNS[J]. *Neuron*, 2015, 85(6): 1227-1243
- 12 Preisner A, Albrecht S, Cui QL, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drug indometacin enhances endogenous remyelination[J]. *Acta Neuropathol*, 2015, 130(2): 247-261
- 13 Yuen TJ, Silberstein JC, Griveau A, *et al.* Oligodendrocyte-encoded HIF function couples postnatal myelination and white matter angiogenesis[J]. *Cell*, 2014, 158(2): 383-396
- 14 Lie DC, Colamarino SA, Song HJ, *et al.* Wnt signalling regulates ad-

- dult hippocampal neurogenesis [J]. *Nature*, 2005, 437(7063): 1370-1375
- 15 Ortega F, Gascon S, Masserdotti G, *et al.* Oligodendroglial and neurogenic adult subependymal zone neural stem cells constitute distinct lineages and exhibit differential responsiveness to Wnt signaling [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(6): 602-613
- 16 Hammond E, Lang J, Maeda Y, *et al.* The Wnt effector transcription factor 7-like 2 positively regulates oligodendrocyte differentiation in a manner independent of Wnt/ β -catenin signaling [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(12): 5007-5022
- 17 Fu H, Cai J, Clevers H, *et al.* A genome-wide screen for spatially restricted expression patterns identifies transcription factors that regulate glial development [J]. *J Neurosci*, 2009, 29(36): 11399-11408
- 18 Fu H, Kesari S, Cai J, *et al.* Tcf7l2 is tightly controlled during myelin formation [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2012, 32(3): 345-352
- 19 Garbay B, Heape AM, Sargueil F, *et al.* Myelin synthesis in the peripheral nervous system [J]. *Prog Neurobiol*, 2000, 61(3): 267-304
- 20 Taw M, Makoukji J, Belle M, *et al.* Wnt/ β -catenin signaling is an essential and direct driver of myelin gene expression and myelination [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(10): 3729-3742
- 21 Shackleford G, Makoukji J, Grenier J, *et al.* Differential regulation of Wnt/ β -catenin signaling by Liver X Receptors in Schwann cells and oligodendrocytes [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(1): 106-114

(收稿日期: 2020-01-03)

(修回日期: 2020-04-26)