

# N-myc 下游调控基因 2 在中枢神经系统相关疾病中作用的研究进展

程浩 唐君 嵇晴

N-myc 下游调控基因 (N-myc downstream regulated gene, NDRG) 家族是近年来新发现的一个基因家族, 家族成员包括 NDRG1、NDRG2、NDRG3 和 NDRG4。Deng 等<sup>[1]</sup>从正常成人脑 cDNA 文库中通过消减杂交法识别得到了 NDRG2。NDRG2 与 NDRG1 和 NDRG3 有 57% 的相同氨基酸序列, 与 NDRG4 有 65% 的相同氨基酸序列<sup>[2]</sup>。NDRG 蛋白亚细胞定位也不同, NDRG3 定位在细胞核, 而 NDRG1、NDRG2 和 NDRG4 在亚细胞结构中定位在细胞质<sup>[3]</sup>。尽管 NDRG 家族成员的氨基酸序列具有较高的同源性, 但是它们的组织分布和功能并不相同<sup>[4]</sup>。NDRG2 主要表达在骨骼肌、脑、心脏、唾液腺等高分化组织的细胞内<sup>[5]</sup>, 参与全身多个器官组织的生理活动和功能调节, 尤其在中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 疾病的神经元发生和分化、突触构建、肿瘤抑制以及细胞应激反应等方面发挥重要作用。在哺乳动物的 CNS 中, NDRG2 广泛且特异性地存在于大脑和脊髓, 在灰质组织中的含量多于白质, 特别在中脑、海马、髓质和丘脑内分布水平较高<sup>[6]</sup>。NDRG2 在 CNS 中的广泛表达提示其在中枢神经系统中发挥着重要作用。有研究表明, 在 CNS 中的 NDRG2 参与神经元的增殖和分化, 促进神经元再生和突触的传导<sup>[7]</sup>。本文就 NDRG2 在中枢神经系统中的相关研究进展作一综述。

## NDRG2 在 CNS 中表达与分布

**胚胎期的表达分布** 利用原位杂交技术, Liu 等<sup>[8]</sup>检测小鼠从胚胎期到出生后各个阶段大脑中 NDRG2 的 mRNA 表达, 发现 NDRG2 主要表达在神经发生区的增殖前体细胞中。利用特异性 RNA 探针可以检测 NDRG2 的 mRNA 表达贯穿于整个中枢神经系统的发育过程, 在端脑、间脑、中脑、后脑和脊髓中均有表达<sup>[8]</sup>。早在胚胎期的第 10.5 天, 大脑新生皮层上首先出现 NDRG2 转录。第 12.5 天, 脑室中的 NDRG2 依然维持高水平的表达, 但在边缘区检测的表达水平较低。第 14.5~16.5 天, 大脑皮质的 NDRG2 表达由皮质深层逐渐转移至表层。NDRG2 在脑室区以及脑室下区 (subventricular zone, SVZ) 中表达明显, 而在中间区和皮质底板表达很微弱。从胚胎期第 18.5 天到出生当天,

NDRG2 在 SVZ 区依然表达明显, 但在其他区域表达开始下调。在新生小鼠大脑中, 侧脑室的 SVZ 和海马齿状回颗粒下层 (subgranular zone, SGZ) 出现 NDRG2 的 mRNA 显著表达, 大脑皮质中 NDRG2 的表达却显著下降。因此, 胚胎期大脑中 NDRG2 表达于增殖的神经祖细胞, 伴随着胚胎的神经发育出现不同的表达变化, 说明 NDRG2 在胚胎期的神经发育和出生后早期的大脑神经发生过程中起到重要作用。

**成熟期的表达分布** 成熟的中枢神经系统中, NDRG2 主要表达在星形胶质细胞内, 通过调节星形胶质细胞的形态和调节与星形胶质细胞反应性相关的细胞骨架蛋白——纤维状肌动蛋白, 来促进星形胶质细胞激活<sup>[9]</sup>。Araya-Callis 等<sup>[10]</sup>通过免疫荧光试验进一步证实, NDRG2 主要在星形胶质细胞的细胞质中与胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 共标。GFAP 是星形胶质细胞的中间丝状蛋白, 也是星形胶质细胞活化的生物标志物, 参与其细胞骨架的构成。通过免疫荧光双标观察发现, NDRG2 蛋白表达在 GFAP 阳性星形胶质细胞样的胶质细胞中, 但不表达在神经元中。这种表达特性揭示 NDRG2 表达可能参与调控星形胶质细胞的生理学功能<sup>[11]</sup>。当某些因素促进细胞中 NDRG2 表达上调时, NDRG2 的表达从细胞质转移到细胞核及细胞膜表面<sup>[12]</sup>, 但在体外培养星形胶质细胞 NDRG2 过表达的条件下却未出现此现象<sup>[13]</sup>。这些研究表明, NDRG2 由细胞质转移到细胞核和细胞膜中表达可能涉及相当复杂的机制。鉴于 NDRG2 的表达转移特性, 它也被认为在细胞应激时作为应激反应分子发挥作用, 但其在细胞应激中表现出的确切生理意义尚待更进一步的研究<sup>[14]</sup>。

## NDRG2 与 CNS 相关疾病

神经退行性疾病是大脑与脊髓中神经元或其髓鞘丧失的疾病状态。大脑和脊髓的神经元一般不会再生, 所以过度的损害是毁灭性的, 不可逆转的, 会导致各种影响记忆或运动的疾病, 包括帕金森病 (Parkinson disease, PD)、阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD)、肌萎缩侧索硬化 (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 等。越来越多的证据表明 NDRG2 参与了神经退行性疾病的发生和发展。

NDRG2 与 PD PD 特指各种原因如脑血管病、动脉硬化、感染、中毒、外伤、药物以及遗传变性等造成的以运动迟缓为主的一组临床症候群, 主要表现为震颤、肌僵直、运动迟缓和姿势不稳等。该病因黑质纹状体变性, 脑内多巴胺含量显著减少所致。Takeichi 等<sup>[15]</sup>研究发现, 在给予引起胶质细胞活化的 PD 相关神经毒素——1-甲基-4-苯基-1, 2, 3,

DOI: 10.12089/jca.2018.04.024

基金项目: 国家自然科学基金 (81600975); 江苏省自然科学基金 (BK20150555)

作者单位: 210002 南京大学医学院附属金陵医院 解放军南京总医院麻醉科

通信作者: 嵇晴, Email: jiqing1973@163.com

6-四氢吡啶(MPTP)后早期(8~24 h),小鼠大脑内许多星形胶质细胞中 NDRG2 的表达出现下调;但 3 d 后,在大部分星形胶质细胞中的 NDRG2 表达却出现了明显增加,且主要聚集在黑质致密部与纹状体。同样,在正常人的黑质致密部无 NDRG2 的表达,而在 PD 患者的黑质致密部星形胶质细胞中的 NDRG2 表达很明显。无论在 PD 患者还是动物模型的实验中均发现,相较于小胶质细胞与其他炎性细胞,星形胶质细胞的活化能起到一定的神经保护作用,但其超活化则会造造成神经毒性作用<sup>[16]</sup>。NDRG2 可以抑制星形胶质细胞的增殖,因此 PD 患者大脑黑质中 NDRG2 表达增加,可能与抑制星形胶质细胞的超活化从而抑制其神经毒性有关。

NDRG2 与 AD AD 是一种以大脑内  $\beta$  淀粉样蛋白质沉积形成的斑块(大脑老年斑)增多,大脑皮层与皮层下细胞内神经原纤维缠结堆积,特定脑区神经元和突触丢失为特征的进行性神经退行性疾病<sup>[17]</sup>。Mitchelmore 等<sup>[18]</sup>研究发现,在人类大脑中,不论是否与 AD 发病机制相关的区域都有 NDRG2 的表达,且大脑中 NDRG2 表达会在出生后逐渐增加。与正常人相比,AD 患者大脑的海马区中 NDRG2 的 mRNA 与蛋白表达均显著上调,可达正常水平的 2 倍,且与年龄和性别无关。神经原纤维缠结与大脑老年斑形成是 AD 的病理学标志。该小组还发现在 6 例不同的 AD 患者大脑相关脑区内,营养不良神经元和老年斑中均有明显的 NDRG2 免疫印迹的存在,某些患者脑区中的营养不良神经元甚至与老年斑相邻。人 NDRG2 定位于染色体的 14q11.2,是定位于染色体 14q24.3 的早老蛋白之后第 2 个与 AD 相关的基因。但 AD 患者大脑中 NDRG2 表达上调的机制仍不清楚。NDRG2 可能通过扮演错误折叠蛋白分子伴侣的角色,在易损细胞内堆积,从而延缓疾病的进程;或作为一种非典型的水解酶能够降解错误折叠的蛋白。然而,NDRG 家族是否具有水解酶活性仍有待证实<sup>[18]</sup>。对 AD 患者大脑中 NDRG2 蛋白表达变化的研究,是解开这个疾病复杂的分子变化的重要一步。

NDRG2 与 ALS ALS 是上、下运动神经元损伤后,导致包括四肢、躯干、胸腹部等处的肌肉逐渐无力和萎缩。肌细胞生成素与 2 型肌钙蛋白 I 是骨骼肌细胞分化的标志物。Foletta 等<sup>[19]</sup>研究发现,使用逆转录病毒敲除小鼠 C2C12 半融合成肌细胞中 NDRG2 后,肌细胞生成素蛋白表达与对照成肌细胞相比升高 6 倍,2 型肌钙蛋白 I 表达量也比对照组升高了 2.5 倍。在融合成肌细胞中敲除 NDRG2 后,2 型肌钙蛋白 I 表达量相对于对照组升高了 3~5 倍。而在肌小管中敲除 NDRG2 后,肌细胞生成素与 2 型肌钙蛋白 I 表达量却出现了不同程度的降低。在骨骼肌细胞分化的过程中,NDRG2 表达水平增加,而当 NDRG2 缺乏时,会导致 C2C12 成肌细胞增殖变慢,从而引起细胞周期终止和肌细胞的生成。骨骼肌增生时,NDRG2 基因表达水平下降,而在肌肉萎缩时,NDRG2 基因表达水平升高,表明 NDRG2 可能是成肌细胞增殖的一种新的调节器,受到合成代谢与分解代谢因子的调控。NDRG2 在 ALS 中表达显著升高提示 NDRG2

可能参与其发病机制。

NDRG2 与神经胶质瘤 神经胶质瘤也称胶质细胞瘤,是最常见的原发性中枢神经系统肿瘤,其中,星形胶质瘤是最常见的一类胶质细胞瘤。WHO 依据星形细胞瘤的细胞异型性将其分为 I~IV 级,分别为毛细细胞型、弥漫型、间变型星形细胞瘤以及恶性胶质瘤<sup>[20]</sup>。但在临床中,同一分级的星形细胞瘤患者也出现完全不同的预后情况。越来越多的研究发现肿瘤标志物检测是一种比病理评分更加合适的预后评价方法。

正常的脑组织中,NDRG2 在血管及胶质细胞中广泛表达。II 级弥漫型星形细胞瘤组织中,NDRG2 免疫反应性主要在血管和胶质细胞中被检测出。III 级间变型星形细胞瘤组织内,除了血管内皮细胞,其他细胞几乎检测不出 NDRG2 表达。而在 IV 级恶性胶质瘤的组织中则几乎没有细胞表达 NDRG2。使用半定量 RT-PCR 检测恶性胶质瘤组织中 NDRG2 的 mRNA 表达,发现相较于正常的脑组织,随着恶性程度的增加,NDRG2 的 mRNA 表达也出现了显著的下降。在体外细胞培养实验中,通过将过表达 NDRG2 转染到恶性胶质瘤细胞 U373 和 U138 中也能够出现细胞增殖明显下降<sup>[1]</sup>,说明 NDRG2 具有显著的抑制胶质瘤的功能,肿瘤恶性程度越高,NDRG2 表达水平越低。肿瘤发生通常涉及各种类型基因,因此到目前为止,仍然缺乏一种普遍认可的生物标志物来评价恶性肿瘤的预后。考虑到 NDRG2 在神经胶质瘤中的表达特性,可以将 NDRG2 作为评价神经胶质瘤预后的一个更好的生物标志物,从而有望在治疗恶性肿瘤方面发挥更大的作用<sup>[21]</sup>。

NDRG2 与抑郁症 抑郁症又称抑郁障碍,以显著而持久的心境低落为主要临床特征,是心境障碍的主要类型。遗传、神经生化、神经内分泌、神经再生等生物学因素均参与了抑郁症的发病过程。额叶皮质是大脑中决定内分泌、情绪以及认知功能的区域之一,抑郁症患者的大脑额叶皮质神经功能发生明显改变<sup>[13]</sup>。在抑郁症大鼠的大脑中,糖皮质激素水平显著升高,导致齿状回的神经生长功能减退,NDRG2 作为糖皮质激素的调控基因也被发现表达升高。但在持续给予抗抑郁药治疗以及电惊厥疗法刺激下,抑郁症得到明显改善,大脑中糖皮质激素水平降低,同时伴随着 NDRG2 的 mRNA 表达出现明显下调<sup>[13]</sup>。因此,NDRG2 的调控可能与海马组织(或其他大脑组织)的形态学和功能学的改变相关联,与抑郁症的发生有着密切关联。糖皮质激素对星形胶质细胞造成的影响是能够增加 NDRG2 的表达,抗抑郁药可能通过颠覆糖皮质激素的效应减少抑郁的症状,这些结果表明,对胶质细胞内 NDRG2 调节与功能的进一步研究能够加深对抑郁的发病机制和治疗的进一步研究<sup>[14]</sup>。

NDRG2 与脑缺血-再灌注(ischemia-reperfusion, IR) 组织器官经历较长时间缺血后重新获得血液灌注,称为 IR。约有 80% 的脑卒中都是由缺血引起的。当血管闭塞发生时,大量的功能损坏但结构依然完整的组织围绕在缺血中心周围,称为缺血半暗带区。在这部分区域,伴随着组织能量消耗会出现离子稳态失衡,大量谷氨酸释放, $Ca^{2+}$  通道功能

紊乱,炎症性改变以及细胞凋亡和坏死等一系列神经化学级联反应<sup>[22]</sup>。如何恢复缺血半暗带区的组织功能,目前已经成为治疗脑缺血的一个新的研究方向。通过对大鼠局灶性脑 IR 模型的免疫组化分析发现,IR 4 h 后,缺血半暗带区 NDRG2 免疫反应性开始增强,24 h 后 NDRG2 的免疫反应性到达顶峰。且相较于术前,NDRG2 蛋白强表达区域由细胞质转移到了细胞核中。而再灌注 72 h 后的 NDRG2 蛋白表达与术前并无差异<sup>[23]</sup>。IR 后缺血半暗带区内 NDRG2 的表达迅速改变提示其可能涉及大鼠缺血半暗带区的细胞凋亡的生理学和病理学机制。

### 小 结

NDRG2 是一种表达广泛、功能多样的基因。目前人类对 NDRG2 的研究大多数在中枢神经系统以及癌症领域。现有研究证据表明,在 CNS 中,NDRG2 对胚胎期和出生后早期的神经发生发育起到了关键的作用。NDRG2 在成熟的星形胶质细胞中特异性表达,以及在中枢神经系统疾病中的表达改变揭示了它与 CNS 疾病的病理机制关系密切。对包括脑胶质瘤在内的各种癌症的研究又发现 NDRG2 能负向调控癌细胞的增殖,提示可以在对抗癌症的治疗作用中发挥重要作用。但是,NDRG2 在细胞中发挥的生理机制以及在细胞应激引起的许多疾病中的调控机制仍未得到详尽的阐述,对其更深入的研究能够为治疗更多 CNS 疾病提供新的思路。

### 参 考 文 献

- [1] Deng Y, Yao L, Chau L, et al. N-Myc downstream-regulated gene 2 (NDRG2) inhibits glioblastoma cell proliferation. *Int J Cancer*, 2003, 106(3): 342-347.
- [2] Kim HS, Kim MJ, Lim J, et al. NDRG2 overexpression enhances glucose deprivation-mediated apoptosis in breast cancer cells via inhibition of the LKB1-AMPK pathway. *Genes Cancer*, 2014, 5(5-6): 175-185.
- [3] Lin K, Yin A, Yao L, et al. N-myc downstream-regulated gene 2 in the nervous system: from expression pattern to function. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2015, 47(10): 761-766.
- [4] Wang L, Liu N, Yao L, et al. NDRG2 is a new HIF-1 target gene necessary for hypoxia-induced apoptosis in A549 cells. *Cell Physiol Biochem*, 2008, 21(1-3): 239-250.
- [5] Qu X, Zhai Y, Wei H, et al. Characterization and expression of three novel differentiation-related genes belong to the human NDRG gene family. *Mol Cell Biochem*, 2002, 229(1-2): 35-44.
- [6] Nichols NR. NdrG2, a novel gene regulated by adrenal steroids and antidepressants, is highly expressed in astrocytes. *Ann N Y Acad Sci*, 2003, 1007: 349-356.
- [7] Nieto-Estévez V, Pignatelli J, Araúzo-Bravo MJ, et al. A global transcriptome analysis reveals molecular hallmarks of neural stem cell death, survival, and differentiation in response to partial FGF-2 and EGF deprivation. *PLoS One*, 2013, 8(1): e53594.
- [8] Liu L, Shi M, Wang L, et al. NdrG2 expression in neurogenic germinal zones of embryonic and postnatal mouse brain. *J Mol Histol*, 2012, 43(1): 27-35.
- [9] Zuo ZF, Liao YH, Ding T, et al. Astrocytic NDRG2 is involved in glucocorticoid-mediated diabetic mechanical allodynia. *Diabetes Res Clin Pract*, 2015, 108(1): 128-136.
- [10] Araya-Callis C, Hiemke C, Abumaria N, et al. Chronic psychosocial stress and citalopram modulate the expression of the glial proteins GFAP and NDRG2 in the hippocampus. *Psychopharmacology (Berl)*, 2012, 224(1): 209-222.
- [11] Shen L, Zhao ZY, Wang YZ, et al. Immunohistochemical detection of NdrG2 in the mouse nervous system. *Neuroreport*, 2008, 19(9): 927-931.
- [12] Zhang J, Liu J, Li X, et al. The physical and functional interaction of NDRG2 with MSP58 in cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 352(1): 6-11.
- [13] Takahashi K, Yamada M, Ohata H, et al. Expression of NdrG2 in the rat frontal cortex after antidepressant and electroconvulsive treatment. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2005, 8(3): 381-389.
- [14] Yao L, Zhang J, Liu X. NDRG2: a Myc-repressed gene involved in cancer and cell stress. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2008, 40(7): 625-635.
- [15] Takeichi T, Takarada-Iemata M, Hashida K, et al. The effect of NdrG2 expression on astroglial activation. *Neurochem Int*, 2011, 59(1): 21-27.
- [16] Teismann P, Schulz JB. Cellular pathology of Parkinson's disease: astrocytes, microglia and inflammation. *Cell Tissue Res*, 2004, 318(1): 149-161.
- [17] Jellinger KA, Attems J. Neuropathological approaches to cerebral aging and neuroplasticity. *Dialogues Clin Neurosci*, 2013, 15(1): 29-43.
- [18] Mitchelmore C, Büchmann-Möller S, Rask L, et al. NDRG2: a novel Alzheimer's disease associated protein. *Neurobiol Dis*, 2004, 16(1): 48-58.
- [19] Foletta VC, Prior MJ, Stupka N, et al. NDRG2, a novel regulator of myoblast proliferation, is regulated by anabolic and catabolic factors. *J Physiol*, 2009, 587(Pt 7): 1619-1634.
- [20] Li L, Wang J, Shen X, et al. Expression and prognostic value of NDRG2 in human astrocytomas. *J Neurol Sci*, 2011, 308(1-2): 77-82.
- [21] Kogiku M, Ohsawa I, Matsumoto K, et al. Prognosis of glioma patients by combined immunostaining for survivin, Ki-67 and epidermal growth factor receptor. *J Clin Neurosci*, 2008, 15(11): 1198-1203.
- [22] Sun M, Zhao Y, Gu Y, et al. Neuroprotective actions of aminoguanidine involve reduced the activation of calpain and caspase-3 in a rat model of stroke. *Neurochem Int*, 2010, 56(4): 634-641.
- [23] Li Y, Shen L, Cai L, et al. Spatial-temporal expression of NDRG2 in rat brain after focal cerebral ischemia and reperfusion. *Brain Res*, 2011, 1382: 252-258.

(收稿日期:2017-03-21)