

睫状神经生长因子与眼病的相关研究

胡淑琴, 徐国兴

基金项目: 国家自然科学基金课题 (No. 81271026)

作者单位: (350005) 中国福建省福州市, 福建医科大学附属第一医院 福建省眼科研究所

作者简介: 胡淑琴, 在读硕士研究生, 研究方向: 晶状体、视网膜疾病。

通讯作者: 徐国兴, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 晶状体、视网膜疾病。fjmuxgx@163.com

收稿日期: 2016-01-17 修回日期: 2017-03-30

Related researches of ciliary neurotrophic factor with eye disease

Shu-Qin Hu, Guo-Xing Xu

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81271026)

Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China

Correspondence to: Guo - Xing Xu. Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. fjmuxgx@163.com

Received: 2016-01-17 Accepted: 2017-03-30

Abstract

• Ciliary neurotrophic factor (CNTF) is one of the most studied neurotrophic factors. Encapsulated cell technology provides a safe and effective route for the clinical application of CNTF. A large body of evidence shows that CNTF has a neuroprotective effect on glaucoma, age-related macular degeneration, optic nerve injury and other eye diseases. This review focuses on the potential clinical application of CNTF in eye diseases.

• KEYWORDS: ciliary neurotrophic factor; encapsulated cell technology; retinitis pigmentosa; glaucoma; monochromasia

Citation: Hu SQ, Xu GX. Related researches of ciliary neurotrophic factor with eye disease. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(5):881-883

摘要

睫状神经生长因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)是神经保护因子中被研究的最多的因子之一, 细胞包裹技术(encapsulated cell technology, ECT)为CNTF的临床应用提供了安全有效的给药途径。大量的研究证据表明, CNTF对视网膜色素变性、青光眼、年龄相关性黄斑变性、视神经损伤等眼部疾病具有神经保护作用。本文就CNTF与眼病的相关研究进展进行综述。

关键词: 睫状神经生长因子; 细胞包裹技术; 视网膜色素变性; 青光眼; 全色盲

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.5.19

引用: 胡淑琴, 徐国兴. 睫状神经生长因子与眼病的相关研究. *国际眼科杂志* 2017;17(5):881-883

0 引言

许多眼部疾病, 如视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa, RP)、视神经损伤、青光眼以及年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 等由于特定的视网膜细胞的坏死凋亡, 导致视力逐渐丧失, 甚至失明。睫状神经生长因子 (ciliary neurotrophic factor, CNTF) 是细胞因子家族中被研究最多的成员之一, 近 30a 的研究已经表明, CNTF 在神经元、少突胶质细胞、肌细胞、骨细胞、脂肪细胞和视网膜细胞中有营养性和调节活性^[1]。CNTF 可以作为神经元损伤后活化的内源性神经营养因子发挥作用, 在 RP、视神经损伤、青光眼以及全色盲等眼部疾病中发挥神经保护作用。但是迄今为止, 关于 CNTF 在眼部疾病中发挥神经保护作用的综合性文献较少^[2], 因此本文就 CNTF 与眼病的相关研究进展综述如下。

1 CNTF 与细胞包裹技术

睫状神经生长因子眼部给药困难, 而且需要频繁给药以维持药物治疗的有效浓度, 为解决这一问题, 美国 Neurotech 公司研发了一种可以持续缓慢释放 CNTF 进入眼后段组织的给药系统, 即细胞包裹技术 (encapsulated cell technology, ECT)。该项技术首先用基因修饰 RPE 使其成为可以持续释放 CNTF 的细胞系, 然后将该细胞系包装并依附于一种热塑性支持物上, 封装在一种具有半渗透作用的聚合物膜胶囊中^[2]。ECT 技术作为一种新近研发的给药系统, 有其明显的优势: (1) 它可以通过基因编码将具有治疗作用的蛋白质工程化至细胞中, 使其具有广泛的应用范围; (2) 治疗性蛋白是在原位新合成和释放的, 因此相对小的蛋白质的量便可以达到理想的治疗效果; (3) 蛋白质稳定、内源性分泌确保了其作用的连续性; (4) 如果需要终止该项治疗, 只需取出 ECT 装置即可。玻璃体内植入 NT-501 使 CNTF 直接作用于眼后段组织, 不仅操作简单, 而且全身副作用小。大量的临床研究表明了 NT-501 治疗 RP 和 AMD 的安全性和有效性^[3-6]。

2 CNTF 与视网膜色素变性

视网膜色素变性目前尚无有效的治疗方法。目前用于治疗的一些策略正在积极的探索中, 有望为 RP 患者带来光明, 包括通过移植健康组织或祖细胞替换受损组织和递送神经生长蛋白以拯救变性组织。CNTF 可以有效延缓 RP 的疾病进程, 在至少 13 种不同的动物模型中得到证明^[7]。邱晓荣^[8]研究发现, 在 RP 小鼠模型的玻璃体内注射 CNTF 能够有效延缓其光感受器细胞的凋亡, 并且使

其视锥、视杆细胞的功能得到显著的提高。CNTF可以有效保护视杆细胞已经在多种RP动物模型中得到证实,Li等^[9]研究证明,在RP中视锥细胞的退行性变是从外节层开始的,它们在携带视紫红质突变基因的S334ter-3大鼠玻璃体腔内注入重组人CNTF,观察到视锥细胞外节层的再生,表明持续性的CNTF治疗可以延缓视锥细胞的退行性病变。

Lipinski等^[10]研究表明,在视网膜变性鼠模型中由腺相关病毒介导的持续hCNTF分泌可以对其整个视网膜外层的视锥细胞发挥保护作用,使其直至视网膜色素变性的终末阶段都可以保持有效的视力。Birch等^[4]完成的随机、多中心、剂量-梯度变化的临床试验中,以68例早期RP患者和65例晚期RP患者作为研究对象,研究结果表明:利用ECT技术在RP患者眼内持续提供CNTF可以显著延缓RP的病程进展甚至停止发展,且没有任何严重不良反应的报道。Kauper等^[5]报道,采用ECT技术可以在RP患者眼后段组织中持续缓慢释放CNTF超过2a时间,其半衰期大约为51mo,并且未见任何严重不良反应,这项回顾性研究表明,眼内ECT植入物对于治疗慢性视网膜变性疾病具有有利的药代动力学特征。Talcott等^[3]为了研究持续的CNTF治疗对于视锥细胞的结构和功能的影响,进行了一项为期30~35mo的临床试验,他们分别在刚植入NT-501装置时和3、6、12、18、24mo时采用自适应光学扫描激光眼底镜检测视锥细胞之间的距离和密度,用OCT检测视网膜厚度,该研究结果表明持续的CNTF治疗可以明显延缓视网膜色素变性中视锥细胞的变性坏死。

3 CNTF与青光眼

由于轴突运输受损导致神经营养因子的缺乏从而导致RGCs的死亡是青光眼视神经病变的一个重要因素。有学者把补充神经营养因子作为青光眼视神经病变的治疗策略,以达到保护RGCs及其轴突的目的^[11]。魏树瑾等^[12]研究证实,玻璃体内注射CNTF通过激活STAT3信号转导途径可以延缓鼠慢性青光眼视神经的损伤。武劲圆等^[13]研究证实,玻璃体内注射CNTF可以下调急性高血压眼谷氨酸在RGCs中的表达,从而对RGCs提供保护作用。Flachsbarth等^[14]将经过基因修饰的神经干细胞移植到RGC轴索损伤的小鼠模型的玻璃体中,结果表明,玻璃体内移植的神经干细胞优先分化为在宿主眼中存活的星形胶质细胞,并可持续稳定地表达CNTF,在至少4mo的时间内可以显著减少RGC的丢失,并且可以诱导受损的RGC轴突的长距离再生,能够持续分泌CNTF的神经干细胞移植眼中的RGC数目是单纯的神经干细胞移植眼的2.8~6.4倍。Hellstrom等^[15]则报道在视神经压迫后或横断后,移植可以编码可分泌形式的CNTF的重组腺相关病毒在至少15mo的时间内能显著促进RGC存活和轴突再生。

4 CNTF与视神经损伤

视神经由RGCs的轴突和胶质等组成,视神经损伤是常见的眼外伤,其损伤可以发生在视神经的每个部位,引起视功能部分或全部丧失,目前临床上由于缺乏及时有效的救治措施,最终约有一半患者丧失视力^[16]。研究显示CNTF可以刺激视神经损伤后的轴突再生和神经元存活^[17-21]。刘如恩等^[18]以无创血管夹夹闭视神经20s完成猫视神经不全损伤模型的制作,然后对视神经不全损伤的猫分别给予静脉、前房、玻璃体内CNTF注射和生理盐水

玻璃体注射作为对照组。结果表明对照组术侧眼P-VEP P100较实验各组振幅明显减低,潜伏期明显延长,差异有统计学意义;与对照组比较,实验组RGCs存活数明显增加,而且神经结构更加完整。王玲等^[19]以球后注射重组人睫状神经营养因子的视神经损伤家兔作为实验组,没有进行干预的视神经损伤家兔作为对照组,研究结果表明实验组P1峰值大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),实验组视神经纤维结构尚存,较少部分视神经纤维排列不规则,视神经无明显变细,对照组视神经纤维束结构消失,神经纤维和胶质细胞变性、坏死,视神经损伤家兔以CNTF治疗7200s后应变上升量大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。尹丹萍等^[20]采用极细微玻管吸断成年大鼠视神经制作视神经吸断伤动物模型,研究结果表明局部应用外源性嗅鞘细胞和玻璃体注射CNTF均能减轻视神经损伤引起的逆行性神经元损害,对视神经元有保护作用,嗅鞘细胞与CNTF联合应用保护视神经效果更加显著,两者合用产生了协同作用。Flachsbarth等^[14]研究表明,将经过基因修饰的神经干细胞移植到RGC轴索损伤的小鼠模型的玻璃体中,该神经干细胞优先分化成星形胶质细胞并可持续表达CNTF,可以显著减少RGC的死亡,并且可以促进受损RGC轴突的再生。并且Pernet等^[22]研究表明,在视神经损伤鼠模型中用CNTF诱导视神经再生8wk后,其长度可以达到甚至超过视交叉,再生的轴突在受损的视神经中保持至少6mo。Elsaedi等^[23]发现IL-6家族细胞因子中CNTF、IL-11和Clcf1/Crflfa在斑马鱼的视神经损伤后可以通过Gp130耦合受体,刺激Jak/Stat3信号转导,从而促进RGCs轴突再生。

对于促进RGCs存活和轴突再生,以上大量的研究结果为临床眼科医师们提供了新的视角。但是目前CNTF对促进RGCs存活和轴突再生的作用尚处于实验室研究阶段,尚需大量的临床研究来证明其有效性和安全性。

5 CNTF与年龄相关性黄斑变性

近年来,随着对AMD治疗的探索,针对防止光感受器和RPE损伤的治疗成为重点战略,有望大大减少AMD的致盲率。CNTF旨在通过防止RPE细胞和光感受器的凋亡来保护黄斑功能。NT-501是ECT装置的一种,已完成的I期临床试验表明NT-501的安全性^[24]。Zhang等^[6]完成的为期1a的II期临床试验中,将招募的51例AMD患者随机分配到高剂量CNTF治疗组、低剂量CNTF治疗组和空白对照组,12mo后测量AMD患者最佳矫正视力的变化,结果显示:空白对照组中有75%的患者视力可以保持稳定,低剂量治疗组中可以达到83.3%,相对于低剂量治疗组和空白对照组分别为83.3%和75%的患者可以保持视力稳定(视力损失<15个字母),然而高剂量治疗组却可以达到96.3%;而且在高剂量治疗组中最佳矫正视力平均提升0.8个字母,而空白对照组中则平均下降9.7个字母($P = 0.0315$);并且整个临床过程无不良反应的发生。该临床试验表明,持续的CNTF治疗不仅可以使AMD患者的视网膜厚度增加,而且可以保护患者的视力,CNTF可以有效延缓AMD的病程进展。

6 CNTF与全色盲

全色盲是一种常染色体隐性遗传视锥细胞功能障碍疾病,目前共发现5个全色盲致病基因,分别是环核苷酸门控通道 $\alpha 3$ (CNGA3)、环核苷酸门控通道 $\beta 3$ (CNGB3)、鸟嘌呤结合蛋白 α 转导活性肽2(GNAT2)、磷酸二酯酶

6C(PDE6C)和磷酸二酯酶 6H(PDE6H)^[25]。长期以来全色盲都被认为是一种不可治愈性疾病,然而近年来以腺相关病毒为载体介导的基因疗法使部分全色盲动物模型在一定程度上恢复了视功能^[26-28]。Komáromy 等^[28]报道将重组腺相关病毒的血清型 5(rAAV5)介导的基因疗法能够挽救<0.5 岁 CNGB3 突变狗的视锥细胞的结构和功能,但当狗>1 岁时其效果则会大大降低,但是当把 CNTF 与基因治疗联合使用时可以有效挽救 14~42 月龄之间所有接受治疗的突变体狗的视锥细胞的功能。他们的研究表明,在突变体狗玻璃体内注入 CNTF 可以引起光感受器的瞬时去分化,这是一种称为解构的过程,解构后会导致视觉细胞变得不成熟,包括外节层变短,视网膜基因表达减少和功能降低,随后光感受器又恢复正常,CNTF 介导的解构和感光器外段的再生被认为是 CNTF 增强基因治疗的机制。Marangoni 等^[27]研究表明,在 CNGB3 突变体鼠玻璃体内单次注入 CNTF 治疗 1wk 后可以显著改善残余视锥细胞的功能,但是该作用是短暂而且可逆的。CNTF 在全色盲中发挥作用的机制尚需进一步研究证明,并且需要更多的实验室和临床研究来证明其有效性和安全性。

7 小结

综上所述,CNTF 对于青光眼、AMD、RP、视神经损伤等眼部疾病来说是一种很有应用前景的神经营养因子,随着近年来 ECT 技术的研发,更是为临床 CNTF 的应用提供了安全保障。目前大量的实验室实验和临床实验已经初步证实了 CNTF 对相关眼部疾病的治疗作用,但是还需要更深入一步关于分子生物学和基因学方面的研究。相信随着对 CNTF 的不断探索研究,在不久的将来会对青光眼、视神经损伤、RP、AMD 等眼部疾病患者带来光明的福音。

参考文献

- 1 Pasquin S, Sharma M, Gauchat JF. Ciliary neurotrophic factor (CNTF): New facets of an old molecule for treating neurodegenerative and metabolic syndrome pathologies. *Cytokine Growth Factor Rev* 2015;26(5):507-515
- 2 陈蕊,李根林. 退行性视网膜病变中睫状神经营养因子神经保护作用的研究进展. *中华眼科杂志* 2011;47(6):568-572
- 3 Talcott KE, Ratnam K, Sundquist SM, et al. Longitudinal study of cone photoreceptors during retinal degeneration and in response to ciliary neurotrophic factor treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(5):2219-2226
- 4 Birch DG, Weleber RG, Duncan JL, et al. Randomized trial of ciliary neurotrophic factor delivered by encapsulated cell intraocular implants for retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 2013;156(2):283-292
- 5 Kauper K, McGovern C, Sherman S, et al. Two-year intraocular delivery of ciliary neurotrophic factor by encapsulated cell technology implants in patients with chronic retinal degenerative diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(12):7484-7491
- 6 Zhang K, Hopkins JJ, Heier JS, et al. Ciliary neurotrophic factor delivered by encapsulated cell intraocular implants for treatment of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(15):6241-6245
- 7 Dutt K, Cao Y, Ezeonu I. Ciliary neurotrophic factor: a survival and differentiation inducer in human retinal progenitors. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2010;46(7):635-646
- 8 邱晓荣. 睫状神经营养因子对视网膜色素变性小鼠光感受器功能

- 影响的 ERG 分析. *当代医药论丛* 2014;(17):159-160
- 9 Li Y, Tao W, Luo L, et al. CNTF induces regeneration of cone outer segments in a rat model of retinal degeneration. *PLoS One* 2010;5(3):e9495
 - 10 Lipinski DM, Barnard AR, Singh MS, et al. CNTF Gene Therapy Confers Lifelong Neuroprotection in a Mouse Model of Human Retinitis Pigmentosa. *Mol Ther* 2015;23(8):1308-1319
 - 11 Johnson TV, Bull ND, Martin KR. Neurotrophic factor delivery as a protective treatment for glaucoma. *Exp Eye Res* 2011;93(2):196-203
 - 12 魏树瑾,韩瑶,冯晶晶,等. 睫状神经营养因子玻璃体内注射对青光眼视神经保护作用的实验研究. *中华眼外伤职业眼病杂志* 2011;33(4):241-246
 - 13 武劲圆,孙丰源,唐东润,等. 睫状神经营养因子对大鼠急性高血压眼视网膜神经节细胞的保护作用. *中华实验眼科杂志* 2012;30(5):433-436
 - 14 Flachsbarth K, Kruszwski K, Jung G, et al. Neural stem cell-based intraocular administration of ciliary neurotrophic factor attenuates the loss of axotomized ganglion cells in adult mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(11):7029-7039
 - 15 Hellstrom M, Harvey AR. Retinal ganglion cell gene therapy and visual system repair. *Curr Gene Ther* 2011;11(2):116-131
 - 16 Faverani LP, Capelari MM, Ramalho-Ferreira G, et al. Ocular reconstruction after zygomatic complex fracture with retention of a foreign body. *J Craniofac Surg* 2011;22(4):1394-1397
 - 17 Hollander A, D'Onofrio PM, Magharious MM, et al. Quantitative retinal protein analysis after optic nerve transection reveals a neuroprotective role for hepatoma-derived growth factor on injured retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(7):3973-3989
 - 18 刘如恩,雷德强,邓兴力,等. 视神经损伤后睫状神经营养因子的神经保护效应. *中华神经外科杂志* 2011;27(2):203-207
 - 19 王玲,吕雪漫,姜琦,等. 重组人睫状神经营养因子干预家兔视神经损伤动物模型视神经轴突特性的分析. *生物医学工程研究* 2016;35(2):104-108
 - 20 尹丹萍,柳林,曹莉. 嗅鞘细胞与睫状神经营养因子协同促进视神经损伤大鼠视神经修复的研究. *中华眼科杂志* 2013;49(11):1020-1028
 - 21 Kaur C, Sivakumar V, Robinson R, et al. Neuroprotective effect of melatonin against hypoxia-induced retinal ganglion cell death in neonatal rats. *J Pineal Res* 2013;54(2):190-206
 - 22 Pernet V, Joly S, Dalkara D, et al. Long-distance axonal regeneration induced by CNTF gene transfer is impaired by axonal misguidance in the injured adult optic nerve. *Neurobiol Dis* 2013;51:202-213
 - 23 Elsaedi F, Bembem MA, Zhao XF, et al. Jak/Stat signaling stimulates zebrafish optic nerve regeneration and overcomes the inhibitory actions of Socs3 and Sfpq. *J Neurosci* 2014;34(7):2632-2644
 - 24 Emerich DF, Thanos CG. NT-501: an ophthalmic implant of polymer-encapsulated ciliary neurotrophic factor-producing cells. *Curr Opin Mol Ther* 2008;10(5):506-515
 - 25 Remmer MH, Rastogi N, Ranka MP, et al. Achromatopsia: a review. *Curr Opin Ophthalmol* 2015;26(5):333-340
 - 26 Michalakis S, Muhlriedel R, Tanimoto N, et al. Restoration of cone vision in the CNGA3^{-/-} mouse model of congenital complete lack of cone photoreceptor function. *Mol Ther* 2010;18(12):2057-2063
 - 27 Marangoni D, Vijayasathay C, Bush RA, et al. Intravitreal Ciliary Neurotrophic Factor Transiently Improves Cone-Mediated Function in a CNGB3^{-/-} Mouse Model of Achromatopsia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(11):6810-6822
 - 28 Komaromy AM, Rowland JS, Corr AT, et al. Transient photoreceptor deconstruction by CNTF enhances rAAV-mediated cone functional rescue in late stage CNGB3-achromatopsia. *Mol Ther* 2013;21(6):1131-1141