

# 神经毡蛋白及其配体的信号传导通路

吕 婷, 汤 蓉, 杨光路\*

内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特

Email: \*nmygl15@126.com

收稿日期: 2021年1月23日; 录用日期: 2021年2月7日; 发布日期: 2021年2月26日

## 摘 要

神经毡蛋白(Neuropilin, NPN/NRP)是分泌糖蛋白的细胞表面受体, 为非酪氨酸激酶受体, 有NPN1及NPN2两种亚型。NRPs最初分别通过介导3类信号素和血管内皮生长因子驱动的信号通路参与神经元引导、血管生成和胚胎血管生成的过程。除此之外, NPN目前已知的调节众多信号通路的配体还包括表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF), 成纤维细胞生长因子(Fibroblast Growth Factors, FGF), 血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )等。本文总结了NPN的相关配体, 并对其信号传导通路作简单介绍, 为NPN的研究提供新的思路。

## 关键词

神经毡蛋白, 配体, 受体

# Signal Transduction Pathways of Neuropilin and Its Ligands

Ting Lv, Rong Tang, Guanglu Yang\*

Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

Email: \*nmygl15@126.com

Received: Jan. 23<sup>rd</sup>, 2021; accepted: Feb. 7<sup>th</sup>, 2021; published: Feb. 26<sup>th</sup>, 2021

## Abstract

Neuropilin, NPN/NRP is a cell surface receptor that secretes glycoproteins and is a non-tyrosine

\*通讯作者。

kinase receptor. There are two subtypes of NPN1 and NPN2. NRPs initially participate in the process of neuron guidance, angiogenesis and embryonic angiogenesis by mediating three types of signal elements and vascular endothelial growth factor-driven signal pathways, respectively. In addition, the known ligands of NPN to regulate many signaling pathways include epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF), platelet-derived growth factor (PDGF) and transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). In this paper, the related ligands of NPN are summarized, and their signal transduction pathways are briefly introduced, which provides a new idea for the study of NPN.

## Keywords

Neurotactin, NPN, Receptor

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

神经毡蛋白(NPN/NRP)是分泌糖蛋白的细胞表面受体,是一类分子量为120~140 KD的I型跨膜蛋白,在神经生长、心血管发育、免疫反应以及肿瘤生长和血管化中发挥作用,可参与机体的一系列生理和病理过程[1]。首先利用原位杂交和免疫标记技术在胚胎脑切片上研究 Neuropilin 受体 NPN1 和 NPN2 的表达,再用这两种方法,在端脑背侧皮质板观察到 NPN1 和 NPN2,这表明 NPN 在分化的神经元中表达[2]。两种 Neuropilin 亚型 NPN-1 和 NPN-2 在 55 个人中有 44% 的序列同源性,并在不同的通路上发挥作用。它们都具有三个胞外结构域、一个跨膜螺旋和一个短的细胞质尾巴的模块化结构[3]。胞外区包括两个 CUB (complement-binding protein homology)结构域(a1/a2)、凝血 VIII 同源结构域(b1/b2)和 MAM (Meprin/A5-protein/PTPmu)结构域(c)。a1a2 模块,与信号量 3A (SEMA3A)相互作用,介导发育中的神经元生长锥崩溃的刺激。c 结构域,与 meprin、A5 和 mua-磷酸酶(MAM)同源,最初被认为参与二聚,但更有可能通过将前面的结构域从膜上定位而促成复杂的组装。单一的跨膜螺旋结构有助于 homo 和异源二聚化,c 端细胞质尾部被认为有助于通过连接素信号,刺激受体介导的内吞作用[3] [4]。人类基因组 NPN2 与孤独谱系疾病及癫痫等多种神经系统疾病相关,总结 NPN 的不同配体,特别是阐明其发挥作用可能涉及的信号传导通路,对于深入认识神经系统疾病,具有至关重要的意义[5] [6]。

## 2. 神经毡蛋白的配体介绍

NPN1 及其密切相关的家族成员 NPN2 是跨膜共受体,缺乏激酶活性。两种 NPN 家族成员均由多种细胞类型表达。虽然 NPNs 普遍存在于细胞表面,但也有报道在线粒体和核内。NPNs 最初分别通过介导 3 类信号量(SEMA3s)和血管内皮生长因子(VEGF)驱动的信号通路参与神经元引导、血管生成和胚胎血管生成。然而,NPN 目前已知与广泛的合作跨膜受体,因此调节众多信号通路,包括表皮生长因子,纤维母细胞生长因子,血小板源生长因子和转化生长因子  $\beta$  等[7]。

### 2.1. 信号素蛋白

NPN1 包含与配体 Semaphorin3A (SEMA3A)结合的两个 CUB 结构域(a1 和 a2) [8],信号素 (Semaphorins, SEMA)是一个蛋白质大家族,广泛表达于多种组织,主要在中枢神经系统发育过程中表达。

它们在器官发育、组织修复、免疫反应以及肿瘤发生过程中发挥着重要作用。SEMA3 分泌型蛋白家族由 7 个成员(A-G)组成, 它们与不同的神经粘连蛋白(NPN1, NPN2)和丛蛋白(PLXNA, PLXND)受体形成复合物。SEMA3A 与 NPN1 和 PLXNA 相互作用, SEMA3F 和 SEMA3G 蛋白与 NPN2 和 PLXNA 受体相互作用, SEMA3B、SEMA3C 和 Sema3d 蛋白与 NPN1、NPN2 和 PLXNA 受体相互作用。3 类 semas 和可溶性 NPNs 由胚胎脉络丛表达并释放到脑脊液中, 它们形成特定的复合物, 与存在于顶端祖细胞上的丛状蛋白结合。结果表明, 外源性脑脊液来源的 Sema/NPN 复合物对神经前体细胞的顶端动态至关重要, 并有助于发育中的大脑皮层中随后分化的细胞的适当生成[9]。在癌症生物学中, 根据不同的 SEMA3 受体复合物的活性, Sema3F 通过 NPN2/PlxnA3 配体受体信号通路可以介导促肿瘤或抑制肿瘤的功能[7]; 在人类中, 信号素和丛状蛋白基因变异与许多神经发育障碍有关, 包括自闭症谱系障碍; 信号素可能在皮质纹状体通路的发育和维持中起重要作用; 同时, 该信号通路还可介导气味诱导的吸引人的社会反应; Sema3G/NPN2/PlexinA4 信号级联, 激活细胞内的 rac1 以促进兴奋性谷氨酸能突触密度和突触功能。参与对脑损伤和环境变化的反应, 以及在发育过程中神经元的迁移和分化[10] [11] [12] [13]。

## 2.2. 血管内皮生长因子

血管内皮生长因子(VEGF)是一个家族, 包括 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E 和胎盘生长因子(PGF)。通常 VEGF 即 VEGF-A。人类 VEGFA 基因由 8 个外显子组成, 由 7 个内含子 30、31 分隔。选择性外显子剪接最初被证明在信号序列切割 30、31 之后产生四种不同的异构体(VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206), 分别含有 121、165、189 和 206 个氨基酸。天然 VEGF 是一种 45kDa 的肝素结合的同源二聚体糖蛋白, 其性质与 VEGF165 的性质非常一致[14]。NPN1 主要与 vegf-a165 结合, 介导血管内皮细胞中的血管生成, 而 NPN2 与 VEGF-C 相互作用, 调节淋巴管生成[15]。参与 VEGF 配体结合的两个因子 V/VIII 结构域(b1 和 b2)和一个 MAM 结构域(c 结构域) [8]。VEGF 基因的偶数 1 个等位基因缺失会导致内皮细胞分化不足、血管形成不足和早期胚胎死亡。胚胎中 VEGF 的过度表达也是灾难性的, 这表明血管发育需要精确控制 VEGF 的表达。除了酪氨酸激酶 VEGF 受体(VEGFR1 和 VEGFR2)外, 肿瘤细胞还表达另一类 VEGF 受体——神经肽(NPN)。NPN 具有与 VEGFR1 和 VEGFR2 相互作用和调节的能力[16], NPNS 具有较短的胞内结构域, 通过与具有胞内激酶结构域的网络蛋白形成复合物来激活细胞内信号转导。同时, NPN1 和 NPN2 与 VEGFR1 和 VEGFR2 形成的复合物, 还可以作为含有肝素结合域的 VEGF 配体的辅助受体[17]。

## 2.3. 转化生长因子 $\beta$

NPNs 参与多种信号传导途径, 尤其与癌症的发生发展联系密切。然而, NPNs 在癌症中的确切作用机制很难确定。据报道, 转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ )信号传导在癌症进展的作用包括上皮到间充质转变(EMT), 细胞干性, 侵袭和逃避免疫系统。重要的是, 它们促进 EMT 并维持未成熟或癌症干细胞表型。多项研究表明, NPNs 可以通过多种机制促进癌细胞的增殖, 迁移, 侵袭, 粘附和转移。最近的研究表明, NPN 是多功能的共受体, 具有结合不同蛋白家族的能力, 包括 TGF- $\beta$ 1 和其他生长因子。因此, NPN/TGF- $\beta$  相互作用可能直接或间接影响大量的生物过程。据报道, NPN1 结合并激活潜在形式的 TGF- $\beta$ 1, 因此推测它也可以作为 TGF- $\beta$ 1 共受体, 在成纤维细胞从静止阶段向激活阶段过渡期间调节 TGF- $\beta$ 1 信号传导。在多种细胞类型中已证明 NPNs 增强 TGF- $\beta$  诱导的反应的能力, 包括成纤维细胞, 肝星状细胞, 内皮细胞, T 淋巴细胞, 心肌细胞和各种类型的癌细胞[18]。用 Westernblot 和 qRT-PCR 分别检测转化生长因子- $\beta$ -1/NPN1 信号通路中 NPN1 蛋白和 mRNA 在 EMT 过程中的表达变化, 结果显示, 在 5 ng/mL TGF- $\beta$ -1 作用下, NPN1 蛋白表达稳定下降, 且在 TGF- $\beta$ 1 + SiNPN1 组明显降低( $P < 0.05$ ), 而 TGF- $\beta$ 1 + NC 组和

TGF- $\beta$ 1 + Con 组之间无明显变化( $P > 0.05$ )。沉默 NPN1 可能通过调节转化生长因子- $\beta$ 1/NPN1 信号通路逆转内皮细胞转导过程,提示 NPN1 作用于转化生长因子- $\beta$ 1 途径下游。结果表明,NPN1 信号转导通路可能参与了转化生长因子  $\beta$ 1 介导的上皮细胞内膜转化[19]。

#### 2.4. 血小板衍生长因子受体 $\alpha$

血小板衍生长因子受体  $\alpha$  (PDGFR $\alpha$ )存在于小鼠肺成纤维细胞(LF)的细胞内和质膜上,通过邻近连接实验,观察到 PDGFR $\alpha$  和 NPN1 共同定位于含有分选内体的早期抗原-1 (EEA1),以及含有 Peckstrin 同源结构域和磷酸化酪氨酸结合结构域-1 (APPL1)的非常早期内体(VEE)中的接头蛋白(Adaptor Protein)。在极早期的内体中,PDGFR 和 NPN1 共定位于含有 Peckstrin 同源结构域和磷酸化酪氨酸结合结构域的早期抗原-1 中。NPN1 缺失降低了蛋白激酶 B 的磷酸化,蛋白激酶 B 是 PDGFR $\alpha$  的主要下游靶标,并限制了含有 APPL1 的内体中肌醇-3 磷酸的积累。PDGFR $\alpha$  与 APPL1 免疫共沉淀,提示 PDGFR $\alpha$  进入 VEE。研究表明,NPN1 促进 PDGFR $\alpha$  进入含有 VEE 的 APPL1,并且 APPL1 增强 PDGFR $\alpha$  信号转导。NPN1 的羧基末端含有一个与 GIPC1 (G 蛋白  $\alpha$  相互作用蛋白-1, Synectin)的 PIP3 (Pleckstrin-homology, PH)结构域结合的海区。GIPC1 与 APPL1 和肌球蛋白-6 (Myo6)联系在一起,肌球蛋白马达是一种非规范的肌球蛋白马达,它向肌动蛋白加端运动,从而将内体货物运送到细胞内部。肌球蛋白-6 在丝状足、足体和片状脂体的形成过程中支持内小体的信号传递功能,这三种信号都使细胞能够探测迁移过程中的细胞外接触[20]。

#### 2.5. 表皮生长因子受体和成纤维细胞生长因子受体

ErbB 家族成员 ErbB1 (表皮生长因子受体(EGFR))和 ErbB2 (人表皮生长因子受体 2 (HER2))是研究较多的受体酪氨酸激酶(RTK),在癌症中起着重要作用。上皮-间充质转化(EMT)的诱导,其中包括成纤维细胞生长因子受体 1 (FGFR1)和轴突引导分子神经肽(NPN)的表达增强。EMT 通过上调 FGFR1 和 NPN1 促进了不同的 RTK 信号转导。转化和进展是由 ErbB 信号通过 EGFR 和 HER2 驱动的。通过使用几个直接作用于这些 RTK 的小分子,这些信号通路可以被有效地阻断,这里统称为 ErbB 抑制(ErbBi)。诱导上皮-间充质转化(EMT)是 ErbBi 获得性耐药的共同机制。通过这个过程,最初由 ErbB 信号驱动的肿瘤细胞上调 FGFR1 和 NPN1。FGFR1 可以通过使用小分子激酶抑制剂(FGFRi)直接靶向。FGFR1 的免疫沉淀与质谱联用表明,FGFR1 与 NPN 形成物理复合物,这种复合物在 EMT 诱导后得到增强。共聚焦成像显示 FGFR1 和 NPN1 主要通过细胞质相互作用。沿着这些思路,短发夹状 RNA 介导的 NPN1 缺失,而不是 NPN1 阻断抗体的使用,抑制了 FGFR 信号转导,减少了体外和体内肿瘤细胞的生长。NPN1 在 EMT 过程中的上调是通过与 NPN1 近端启动子区域含有 4 (BRD4)的染色质阅读器蛋白溴域结合介导的。BRD4 的药理抑制降低了 NPN1 的表达,并抑制了 FGF 介导的肿瘤细胞生长[21]。

### 3. 总结

由于 NPN 在神经生长、心血管发育、免疫反应以及肿瘤生长等过程中都起重要作用,因此,研究 NPN 的病理生理功能及信号传导通路对寻找治疗神经系统疾病、心血管疾病和肿瘤等中国高发疾病的潜在靶点具有重要意义。以上总结了 NPN 的相关配体及其发挥作用的信号传导通路,为 NPN 参与致病机制的疾病的治疗提供了新的思路,也为相关靶点的研究提供了新的切入点,可以通过抑制配体与受体的结合或抑制配体的表达从而对疾病的治疗提出更有效的治疗方案,早日为患者带来福音。

### 参考文献

- [1] 文思思. 神经纤毛蛋白及其配体的免疫调节机制[J]. 国际输血及血液学杂志, 2015, 38(2): 178-181.



- [2] Gerstmann, K., Kindbeiter, K., Telley, L., Bozon, M., Charoy, C., Jabaudon, D., Moret, F. and Castellani, V. (2020) An Unconventional Cerebrospinal Fluid-Derived Semaphorin-Signalling Regulates Apical Progenitor Dynamics in the Developing Neocortex. <https://doi.org/10.1101/2020.05.20.106526>
- [3] Perez-Miller, S., *et al.* (2020) *In Silico* Identification and Validation of Inhibitors of the Interaction between Neuropilin Receptor 1 and SARS-CoV-2 Spike Protein.
- [4] 高增法, 吴永娜, 杜海云, 李汛. 神经菌毛蛋白 1 的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2016, 36(2): 258-261.
- [5] Hosseinpour, M., Mashayekhi, F., Bidabadi, E. and Salehi, Z. (2017) Neuropilin-2 rs849563 Gene Variations and Susceptibility to Autism in Iranian Population: A Case-Control Study. *Metabolic Brain Disease*, **32**, 1471-1474. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0024-2>
- [6] Gant, J.C., Thibault, O., Blalock, E.M., Yang, J., Bachstetter, A., Kotick, J., Schauwecker, P.E., Hauser, K.F., Smith, G.M., Mervis, R., Li, Y.F. and Barnes, G.N. (2009) Decreased Number of Interneurons and Increased Seizures in Neuropilin 2 Deficient Mice: Implications for Autism and Epilepsy. *Epilepsia*, **50**, 629-645. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01725.x>
- [7] Valiulyte, I., *et al.* (2020) A SEMA3 Signaling Pathway-Based Multi-Biomarker for Prediction of Glioma Patient Survival. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 7396. <https://doi.org/10.3390/ijms21197396>
- [8] Zhu, E., Blom, D., Sethumadhavan, S., *et al.* (2020) 683 A Novel Mechanism of Neuropilin-1 Inhibition Results in Improved Tumor Growth Inhibition *in Vivo*. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **8**, A722. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-SITC2020.0683>
- [9] Gerstmann, K., Kindbeiter, K., Telley, L., *et al.* (2020) An Unconventional Cerebrospinal Fluid-Derived Semaphorin-Signalling Regulates Apical Progenitor Dynamics in the Developing Neocortex.
- [10] Wang, Q., Chiu, S.-L., Koropouli, E., *et al.* (2017) Neuropilin-2/PlexinA3 Receptors Associate with GluA1 and Mediate Sema3F-Dependent Homeostatic Scaling in Cortical Neurons. *Neuron*, **96**, 1084-1098.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.10.029>
- [11] Inokuchi, K., Imamura, F., Takeuchi, H., Kim, R., Okuno, H., Nishizumi, H., Bito, H., Kikusui, T. and Sakano, S. (2017) *Nrp2* Is Sufficient to Instruct Circuit Formation of Mitral-Cells to Mediate Odour-Induced Attractive Social Responses. *Nature Communications*, **8**, Article No. 15977. <https://doi.org/10.1038/ncomms15977>
- [12] Tan, C., Lu, N.-N., Wang, C.-K., *et al.* (2019) Endothelium-Derived Semaphorin 3G Regulates Hippocampal Synaptic Structure and Plasticity via Neuropilin-2/PlexinA4. *Neuron*, **101**, 920-937.e13. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.12.036>
- [13] Gant, J.C., Oliver, T., BlalockEric, M., *et al.* (2009) Decreased Number of Interneurons and Increased Seizures in Neuropilin2 Deficient Mice: Implications for Autism and Epilepsy. *Epilepsia*, **50**, 629-645. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01725.x>
- [14] Angelika, B., Michael, F., Martina, R., *et al.* (2019) Neuropilin-2 Is an Independent Prognostic Factor for Shorter Cancer-Specific Survival in Patients with Acinar Adenocarcinoma of the Prostate. *International Journal of Cancer*, **146**, 2619-2627. <https://doi.org/10.1002/ijc.32679>
- [15] Harman, J.L., Sayers, J., Chapman, C., *et al.* (2020) Emerging Roles for Neuropilin-2 in Cardiovascular Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 5154. <https://doi.org/10.3390/ijms21145154>
- [16] Elaimy, A.L., Amante, J.J., Zhu, L.J., Wang, M., Walmsley, C.S., FitzGerald, T.J., Goel, H.L. and Mercurio, A.M. (2019) The VEGF Receptor Neuropilin 2 Promotes Homologous Recombination by Stimulating YAP/TAZ-Mediated Rad51 Expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **116**, 14174-14180. <https://doi.org/10.1073/pnas.1821194116>
- [17] Shen, J.K., Samul, R., Zimmer, J., Liu, H.S., Liang, X.L., Hackett, S. and Campochiaro, P.A. (2004) Deficiency of Neuropilin 2 Suppresses VEGF-Induced Retinal Neovascularization. *Molecular Medicine*, **10**, 12-18. <https://doi.org/10.2119/2004-00017.Campochiaro>
- [18] 刘想梅, 徐卫国. Neuropilins 在肿瘤中的多功能作用机制[J]. 岭南现代临床外科, 2020, 20(4): 540-544.
- [19] Xu, W.G., Yang, X., Zhan, Q.Q., Ding, G.Y., Guo, S., Zhu, B., Xu, H. and Liu, X.M. (2020) Silencing Neuropilin 1 Gene Reverses TGF- $\beta$ 1-Induced Epithelial Mesenchymal Transition in HGC-27 Gastric Cancer Cell Line. *Oncology and Translational Medicine*, **6**, 258-265.
- [20] McGowan, S.E. and McCoy, D.M. (2020) Neuropilin-1 Directs PDGFR $\alpha$ -Entry into Lung Fibroblasts and Signaling from Very Early Endosomes. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00149.2020>
- [21] Abdullah, A., *et al.* (2021) Epigenetic Targeting of Neuropilin-1 Prevents by Pass Signaling in Drug-Resistant Breast Cancer. *Oncogene*, **40**, 322-333.