

本文引用:于亚楠,刘彦礼,徐振平,等.视网膜钙黏蛋白在中枢神经系统发育中的作用研究现状[J].新乡医学院学报,2015,32(9):804-806.

【专题报告】

# 视网膜钙黏蛋白在中枢神经系统发育中的作用研究现状

于亚楠<sup>1</sup>, 刘彦礼<sup>1,2</sup>, 徐振平<sup>1,2</sup>, 林俊堂<sup>1,2</sup>

(1. 新乡医学院生命科学技术学院, 河南 新乡 453003; 2. 河南省医用组织再生重点实验室, 河南 新乡 453003)

**摘要:** 钙黏蛋白通过介导神经系统中细胞间黏附,影响神经细胞的分选、迁移和定位以及轴突的生长和路径选择,在中枢神经系统发育中扮演重要角色。视网膜钙黏蛋白因最早在视网膜中被发现而命名,其隶属于经典钙黏蛋白家族中的I型钙黏蛋白,与其他家族成员相比,视网膜钙黏蛋白在中枢神经系统发育过程中的功能,如神经元定位调控、轴突路径选择及突触连接等在国内外尚缺乏较深入的研究。因此,本研究就视网膜钙黏蛋白的结构及其在中枢神经系统中的作用作一综述,以期与研究与之相关的人类神经性疾病提供理论依据。

**关键词:** 钙黏蛋白; 视网膜钙黏蛋白; 中枢神经系统; 神经疾病

**中图分类号:** Q593 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2015)09-0804-03

细胞间接触和黏附对多细胞生物的发育至关重要,尤其是对精细复杂的中枢神经系统发育及功能的调控。在胚胎发育过程中,中枢神经系统的发育伴随有大量神经元的形成和迁移,而神经元的形成和迁移受到众多分子的调控,其中细胞黏附分子钙黏蛋白发挥着重要作用。自日本学者 Takeichi 证实第1个钙黏蛋白基因至今已有30多年<sup>[1]</sup>,研究发现钙黏蛋白的功能并不局限于机械性的黏附,随着研究的深入,其已知功能已扩展到器官发生的多个方面<sup>[2]</sup>。迄今发现和证实的钙黏蛋白超过100种<sup>[3-4]</sup>。已有研究表明,在神经系统发育过程中,钙黏蛋白在神经核、灰质、大脑皮层的形成、区域化和维持过程中发挥着重要作用,其通过参与神经元和胶质细胞的增殖、分化和迁移,以及轴突生长、神经束形成、路径识别和突触连接等生命活动而调控神经系统的发育<sup>[5-6]</sup>。除在神经系统发育中具有重要作用外,钙黏蛋白还与某些神经性疾病的发生密切相关。尽管临床研究表明精神分裂症和情绪性疾病的发生是由多因素导致的,但钙黏蛋白及连环蛋白基因的改变可能是潜在的诱发因素<sup>[7-10]</sup>。视网膜钙黏蛋白(retinal cadherin, R-cadherin)作为经典钙黏蛋白家族的重要成员,除与其他钙黏蛋白具有相似的结构和功能外,其本身还具有某些独特功能。本文就 R-cadherin 的结构及其在中枢神经系统中的作用作一综述,以期与研究与之相关的人类神经性疾病

提供理论依据。

## 1 钙黏蛋白家族

钙黏蛋白是一组介导同种细胞互相黏附的钙依赖性单链跨膜糖蛋白,参与形成和维护细胞间的连接<sup>[11]</sup>,属于I型跨膜蛋白,其家族成员具有类似的分子结构,均由胞外区、跨膜区和胞质区3部分组成。作为细胞黏附分子,钙黏蛋白主要通过介导细胞间黏附和信号转导而调控胚胎发育过程中的细胞识别、迁移、组织分化以及成体组织器官构成。根据不同钙黏蛋白成员结构和功能的差异,钙黏蛋白超家族可分为经典钙黏蛋白、原钙黏蛋白(Protocadherin)和非经典钙黏蛋白等亚家族<sup>[7,10,12-14]</sup>。经典钙黏蛋白作为钙黏蛋白家族中最早发现的亚家族,目前已知的成员有18个,而依据胞外区的差异,又可将经典钙黏蛋白细分为I型和II型<sup>[15]</sup>。目前为止,I型经典钙黏蛋白主要由4个成员组成,分别为上皮钙黏蛋白(E-cadherin)、神经钙黏蛋白(N-cadherin)、R-cadherin及胎盘钙黏蛋白(P-cadherin);而II型钙黏蛋白主要包括Cadherin-6、Cadherin-7、Cadherin-8和Cadherin-10等。

正是因为钙黏蛋白超家族的众多成员,以及它们在结构和功能上的差异,才为高等动物组织形态形成需要的多种类型细胞间联系和复杂神经网络形成提供可能<sup>[7,12,16-17]</sup>。因此,阐明钙黏蛋白在中枢神经网络形成和调控中的作用及其与人类神经性疾病的关系将有助于为相关疾病提供新的治疗方法。然而作为经典钙黏蛋白家族重要成员的R-cadherin,目前对其了解相对缺乏,因此对R-cadherin的深入研究不仅有助于明确神经发育的机制,还将为与其相关疾病的治疗提供潜在策略。

DOI:10.7683/xyxyxb.2015.09.003

收稿日期:2015-06-01

基金项目:国家自然科学基金应急项目(编号:31440049);新乡医学院研究生科研创新支持计划资助项目(编号:YJSCX20426Y)

作者简介:于亚楠(1988-),女,河南开封人,硕士研究生在读,研究方向:神经发育。

通信作者:林俊堂(1976-),男,河南濮阳人,博士,教授,硕士研究生导师,主要从事神经与胚胎发育研究;E-mail:linjt@xxmu.edu.cn。

## 2 R-cadherin 基本结构

1988 年 Matsunaga 等<sup>[18]</sup>推测在视网膜中可能存在与 N-cadherin 相似的钙黏蛋白;1991 年 R-cadherin 首次被证实实在视网膜中表达,因此被命名为 R-cadherin,并发现其在不同物种中高度同源<sup>[19]</sup>。Inuzuka 等<sup>[19]</sup>通过基因文库技术推测编码 R-cadherin 的阅读框起始于 157 位核苷酸编码的甲硫氨酸,而终于 2 896 位核苷酸编码的终止子,其完整蛋白由 913 个氨基酸组成。进一步通过与其他钙黏蛋白序列比较,推测成熟的 R-cadherin 可能由 747 个氨基酸组成,相对分子质量约为 82 200。在蛋白结构方面,R-cadherin 与同亚家族的 N-cadherin 具有最高的氨基酸序列相似度,达 74%,暗示二者结构高度相似。推测 R-cadherin N 端胞外区由 1 段 5 个串联重复单位组成,每个串联重复的片段长度约 100 个氨基酸;跨膜区大约由 23 个氨基酸组成;而 C 端的胞质区是由大约 200 个氨基酸构成的保守区域。胞外区是钙黏蛋白之间相互结合的结构域,相同钙黏蛋白分子间才能够相互结合形成细胞间连接,而不同钙黏蛋白分子间尽管具有相似的胞外区,但无法形成有效连接<sup>[20-22]</sup>。

## 3 R-cadherin 在中枢神经系统发育中的研究进展

钙黏蛋白分子在神经系统发育以及成熟神经元中的作用已被广泛研究。通过对遗传性疾病的分子遗传分析发现多种钙黏蛋白与中枢神经性疾病呈相关性。已有研究表明,Protocadherin-19 基因突变可引起癫痫及精神发育迟滞等;并且 Cadherin-15 和 Protocadherin-19 与潜在的认知障碍有关;另外,Cadherin-5、Cadherin-8、Cadherin-9、Cadherin-10、Cadherin-13、Cadherin-15、Protocadherin-10、Protocadherin-19 及 Protocadherin-b4 可能参与自闭症的发病机制;此外,Cadherin-7、Cadherin-12、Cadherin-18、Protocadherin-12 及 FAT 与潜在的精神分裂症发病机制相关;而 Cadherin-11、Cadherin-12 和 Cadherin-13 与甲基苯丙胺和乙醇依赖症有关<sup>[9]</sup>。有研究发现,不同钙黏蛋白分子在神经系统发育过程中呈现复杂的表达和调控模式,参与脊髓和脑的形态及神经回路的形成与调控<sup>[7-8,13]</sup>。

研究表明,R-cadherin 的表达存在一定的局限性,主要集中在视网膜区和神经系统,提示其在视神经的发育或形成中具有重要作用;除此之外,R-cadherin 在大脑、端脑以及脊髓等相关区域中也有表达。通过对 R-cadherin 和 N-cadherin 这 2 种同属 I 型经典钙黏蛋白分子所介导的细胞黏附研究,首次发现钙黏蛋白除能介导同种黏附外,还可介导异种

黏附,但二者与 E-cadherin 不能发生异种黏附,提示 R-cadherin 和 N-cadherin 具有功能上的相似性<sup>[23]</sup>。尽管 R-cadherin 与 N-cadherin 高度相似,但在鸡胚中枢神经系统中运动神经元轴突表达 R-cadherin 的模式有别于感觉神经元中 N-cadherin 表达模式;在鸡胚后脑,N-cadherin 沿着三叉神经下行的鸡胚脊髓背侧表达,R-cadherin 在感觉神经元不表达,而是表达在迷走神经和舌咽神经的内脏运动系统<sup>[24]</sup>。Andrews 等<sup>[25]</sup>进一步研究发现,R-cadherin 扮演着由 Pax6 调控的早期轴突生长促进信号角色;Pax6 突变小鼠前脑先导轴突的路径选择会发生错误,引起细胞黏附分子 R-cadherin 在腹侧丘脑区域的表达缺失;而在体外,通过向 Pax6 突变小鼠电转 R-cadherin 替代物可以促进先导轴突生长。另外,有研究表明,R-cadherin 的表达受 Pax6 调控,并与 Pax6 一起参与前脑不同区域的边界形成<sup>[26]</sup>。

此外,R-cadherin 还可与其他钙黏蛋白共同引导鸡胚视顶发出的神经纤维到达相应钙黏蛋白阳性部位的路径选择;并且通过在特定神经胶质细胞中的表达,与 B-cadherin 共同区分参与指导鸡胚头部视神经轴突路径选择的不同神经胶质细胞类型<sup>[27-28]</sup>。而 Oblander 等<sup>[29]</sup>也证实 R-cadherin、E-cadherin、N-cadherin 可通过受体蛋白酪氨酸磷酸酶 mu 不同信号分子调控视网膜神经元轴突生长。同时,Babb 和 Wilson 等<sup>[30-31]</sup>的斑马鱼实验结果亦表明 R-cadherin 可调控视神经系统的分化发育,并参与指导颅神经节和侧线系统的发育。

## 4 结语与展望

在神经系统发育的不同阶段,不同基因复杂有序地参与神经细胞的增殖、分化、迁移、黏附、命运决定以及轴突路径选择和突触连接等,最终形成复杂的神经回路支配各项生理活动。当神经细胞迁移不能正常进行时,会导致神经发育异常,进而表现出相应神经精神疾病,如精神分裂症、癫痫、抑郁症和孤独症等。这些疾病是典型的人类神经系统发育异常所导致的疾病。尽管大量研究已表明钙黏蛋白在正常神经系统发育过程中扮演着不可或缺的角色,但对于经典钙黏蛋白中的 R-cadherin 在调节神经系统发育过程中的功能却知之甚少。目前,通过活体电转基因技术可实现目的基因在活体内(鸡胚、鼠胚等)定时定位的异常表达,是一种探索基因功能的有效方法,若同时结合脊髓 Open-book 技术,将能从不同角度和方面更全面地研究目的基因对活体神经系统发育的影响。因此,本课题组前期已建立并利用鸡胚活体原位电转基因技术对 R-cadherin 在脊髓神经元的发育、迁移以及神经纤维投射中的作用展开了一系列研究,并已获得初步结果。研究结果表

明 R-cadherin 在鸡胚脊髓发育中表达受腹背轴形成腹侧信号分子 Shh 和背侧转录因子 Pax3/7 调控;抑制 R-cadherin 表达后导致神经细胞迁移紊乱和轴突生长及路径选择发生障碍,而原位杂交结果也部分显示了 R-cadherin 在鸡胚脊髓不同部位的表达及与相关基因间的关系。基于以上结果,本课题组将在实现 R-cadherin 于脊髓发育过程中定时定位异常表达的基础上,结合 Open-book、脊髓片培养、神经元分离培养等技术,从活体-组织-细胞不同层次全面研究 R-cadherin 在神经元迁移定位、轴突生长和路径选择及神经回路形成中的作用,随后通过数字化基因表达谱分析差异表达基因等,明确 R-cadherin 参与的信号通路,探讨其发挥作用的分子机制。相信随着对 R-cadherin 的结构、功能以及其对胚胎发育调控机制研究的不断深入,将会为揭示钙黏蛋白家族成员在动物复杂的神经系统发育过程中的作用奠定基础,并为人类相关神经疾病的发病机制研究及临床治疗提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] Takeichi M. Functional correlation between cell adhesive properties and some cell surface proteins[J]. *Cell Biol*, 1977, 75 (2 Pt 1): 464-474.
- [2] Halbleib J M, Nelson W J. Cadherins in development: cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis[J]. *Genes Dev*, 2006, 20 (23): 3199-3214.
- [3] Takeichi M. The cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis[J]. *Development*, 1988, 102 (4): 639-655.
- [4] Lin J T, Luo J K, Redies C. Cadherin-19 expression is restricted to myelin-forming cells in the chicken embryo[J]. *Neuroscience*, 2010, 165 (1): 168-178.
- [5] Lavdas A A, Papastefanaki F, Thomaidou D, et al. Cell adhesion molecules in gene and cell therapy approaches for nervous system repair[J]. *Curr Gene Ther*, 2011, 11 (2): 90-100.
- [6] Lee K E, Seo J, Shin J, et al. Positive feedback loop between Sox2 and Sox6 inhibits neuronal differentiation in the developing central nervous system[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111 (7): 2794-2799.
- [7] Takeichi M. The cadherin superfamily in neuronal connections and interactions[J]. *Nature Rev Neurosci*, 2007, 8 (1): 11-20.
- [8] Redies C, Neudert F, Lin J. Cadherins in cerebellar development: translation of embryonic patterning into mature functional compartmentalization[J]. *Cerebellum*, 2011, 10 (3): 393-408.
- [9] Redies C, Hertel N, Hübner C A. Cadherins and neuropsychiatric disorders[J]. *Brain Res*, 2012, 1470: 130-144.
- [10] Hirano S, Takeichi M. Cadherins in brain morphogenesis and wiring[J]. *Physiol Rev*, 2012, 92 (2): 597-634.
- [11] 锥红字, 王聪睿, 范学晖, 等. 出生前后大鼠心肌细胞钙黏蛋白的表达[J]. *新乡医学院学报*, 2004, 6 (3): 450-452.
- [12] Guo Y, Monahan K, Wu H, et al. CTCF/cohesin-mediated DNA looping is required for protocadherin  $\alpha$  promoter choice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109 (51): 21081-21086.
- [13] Lin J, Wang C, Redies C. Expression of delta-protocadherins in the spinal cord of the chicken embryo[J]. *J Comp Neurol*, 2012, 520 (7): 1509-1531.
- [14] Maître J L, Heisenberg C P. Three functions of cadherins in cell adhesion[J]. *Curr Biol*, 2013, 23 (14): R626-R633.
- [15] Hulpiau P, van Roy F. Molecular evolution of the cadherin superfamily[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41 (2): 349-369.
- [16] Harris T J, Tepass U. Adherens junctions: from molecules to morphogenesis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11 (7): 502-514.
- [17] Smutny M, Yap A S. Neighborly relations: cadherins and mechanotransduction[J]. *J Cell Biol*, 2010, 189 (7): 1075-1077.
- [18] Matsunaga M, Hatta K, Takeichi M. Role of N-cadherin cell adhesion molecules in the histogenesis of neural retina[J]. *Neuron*, 1988, 1 (4): 289-295.
- [19] Inuzuka H, Miyatani S, Takeichi M. R-cadherin: a novel  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent cell-cell adhesion molecule expressed in the retina[J]. *Neuron*, 1991, 7 (1): 69-79.
- [20] Nose A, Nagafuchi A, Takeichi M. Expressed recombinant cadherins mediate cell sorting in model systems[J]. *Cell*, 1988, 54 (7): 993-1001.
- [21] Gumbiner B M. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis[J]. *Cell*, 1996, 84 (3): 345-357.
- [22] Hatta K, Nose A, Nagafuchi A, et al. Cloning and expression of cDNA encoding a neural calcium-dependent cell adhesion molecule: its identity in the cadherin gene family[J]. *J Cell Biol*, 1988, 106 (3): 873-881.
- [23] Shan W S, Tanaka H, Phillips G R, et al. Functional cis-heterodimers of N- and R-cadherins[J]. *Cell Biol*, 2000, 148 (3): 579-590.
- [24] Redies C, Inuzuka H, Takeichi M. Restricted expression of N- and R-cadherin on neurites of the developing chicken CNS[J]. *J Neurosci*, 1992, 12 (9): 3525-3534.
- [25] Andrews G L, Mastick G S. R-cadherin is a Pax6-regulated, growth-promoting cue for pioneer axons[J]. *J Neurosci*, 2003, 23 (30): 9873-9880.
- [26] Stoykova A, Götz M, Gruss P, et al. Pax6-dependent regulation of adhesive patterning, R-cadherin expression and boundary formation in developing forebrain[J]. *Development*, 1997, 124 (19): 3765-3777.
- [27] Treubert-Zimmermann U, Heyers D, Redies C. Targeting axons to specific fiber tracts *in vivo* by altering cadherin expression[J]. *J Neurosci*, 2002, 22 (17): 7617-7626.
- [28] Gerhardt H, Rascher G, Schuck J, et al. R- and B-cadherin expression defines subpopulations of glial cells involved in axonal guidance in the optic nerve head of the chicken[J]. *Glia*, 2000, 31 (2): 131-143.
- [29] Oblander S A, Brady-Kalnay S M. Distinct PTPmu-associated signaling molecules differentially regulate neurite outgrowth on E-, N-, and R-cadherin[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2010, 44 (1): 78-93.
- [30] Babb S G, Kotradi S M, Shah B, et al. Zebrafish R-cadherin (Cdh4) controls visual system development and differentiation[J]. *Dev Dyn*, 2005, 233 (3): 930-945.
- [31] Wilson A L, Shen Y C, Babb-Clendenon S G, et al. Cadherin-4 plays a role in the development of zebrafish cranial ganglia and lateral line system[J]. *Dev Dyn*, 2007, 236 (3): 893-902.

(本文编辑:孟 月)