

【综述】

通信作者:路承彪(1963-),男,湖北仙桃人,博士,教授,研究方向:神经退行性疾病;E-mail:johnlu9000@hotmail.com。

白缺失会引起焦虑样反应^[7]。

LNx 可靶向调节 Numb 的蛋白酶体降解,有研究显示,LNx 1/LNx 2 双基因敲除小鼠表现出焦虑相关行为的减少,而 LNx 单基因缺失的小鼠无 Numb 功能障碍,无学习、运动或感觉功能异常^[4]。

2 Numb 与神经元分化和突触形成

Numb 具有在 2 个子细胞之间不对称分布的潜力,从而使它们能够选择不同的细胞表型,充当二元开关,对神经系统发育过程中的不对称分裂至关重要。PC12 细胞中过表达 SPTB 可诱导明显的神经元样分化,而过表达 LPTB Numb 则诱导细胞增殖^[8]。有研究表明,交替 pre-mRNA 剪接是产生基因产物多样性的主要机制之一。体外培养的皮层神经元突起的生长需要 RNA 结合基序 4(RNA-binding motif 4, RBM4),RBM4 可通过调节组织特异性的 pre-mRNA 剪接调控细胞分化;还可通过调节 Numb 外显子的选择,促进神经元分化和突起生长。缺乏 RBM4 的胚胎小鼠大脑表现出 Numb pre-mRNA 的异常剪接与神经元突起生长缺陷,这种缺陷可被外显子 9-缺乏的 Numb 亚型修复^[9]。神经元特异性 RNA 结合蛋白 Rbfox3,是作用于 Numb pre-mRNA 编码的 1 个信号适配蛋白,可以促进神经元的分化。研究显示,表达 Numb 剪接亚型,能改善 Rbfox3 缺失引起的神经元分化缺陷,Rbfox3 依赖的 Numb 交替剪接,在神经元分化过程中起着重要作用^[10]。

AD 患者树突棘的减少程度与疾病进展高度相关,且新突触的形成是记忆和认知的关键^[1]。Numb 可以影响突触的形成,海马神经元中的 LPTB/LPRR Numb 亚型过表达可导致神经元突触棘长度增加。Cdc42、Rac 和 Rho 均是 Rho 家族三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)酶的成员,Numb 可与 CDC42 鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)、Rac GEF Tiam1 和 Rho GEF Kalirin 相互作用,GEF 通过 GTP 与二磷酸鸟苷(guanosine diphosphate, GDP)交换激活 Rho 蛋白,通过调节肌动蛋白而在突触形成中起关键作用。另外,Numb 可与 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)谷氨酸受体和 EphB2 相互作用^[11],EphB2 是突触正常活动所必需,而 EphB2 在 AD 大脑中表达下调^[12]。

3 Numb 与 APP 转运

APP 异常加工产生 A β 是 AD 发病的核心机制。APP 及分泌酶转运失调可显著影响 APP 的加工。另外,AD 患者神经元存在内吞功能受损,内吞小体

增大是内吞功能受损的早期病理学表现。由于 α 分泌酶主要位于细胞膜,而 β 分泌酶位于酸性细胞内区室如内吞小体,因此,APP 细胞内转运在 A β 形成中起主要作用。

Numb 是一种网格蛋白相关分选蛋白(clathrin associated sorting protein, CLASP),可识别 [FY]xNPx[YF]基序(x 为任何氨基酸)^[13],介导了网格蛋白调节的内吞作用。ADP 核糖体化因子 6(ADP ribosylation factor 6, Arf6)是 GTP 结合蛋白家族成员,参与非网格蛋白依赖的蛋白转运。Numb 在 Arf6 信号调节的蛋白内吞过程中起作用^[3]。

Numb 羧基末端区域含保守的序列,包括天门冬氨酸(D)-脯氨酸(P)-苯丙氨酸(F)(DPF)和天门冬酰胺(N)-脯氨酸(P)-苯丙氨酸(F)(NPF)基序。DPF 基序是网格蛋白相关的 α -适配蛋白的结合位点^[13],而 NPF 基序与含有表皮生长因子受体通路底物 15 同源性结构域的蛋白相互作用,因此在功能上,Numb 也是一个内吞适配蛋白。

在稳定转染不同 Numb 亚型的细胞中表达 SPTB Numb,细胞表现出异常 APP 积累,而表达 LPTB Numb 的细胞则表现出 APP 减少。表达 SPTB Numb 和 LPTB Numb 的细胞中 β 和 γ 分泌酶的活性及 APP mRNA 的表达量比较差异均无统计学意义,提示 Numb 通过改变 APP 的细胞内转运影响 APP 的代谢^[14]。AD 患者大脑存在极性蛋白 Par3 缺失。Par3 缺失导致 α 分泌酶对 APP 降解的下降,APP 靶向转运至内吞小体/溶酶体,产生 A β 积累。Par3 过表达可促进非淀粉途径的 APP 加工。Par3 通过干扰 Numb 和 APP 的相互作用而发挥作用^[14]。另有实验表明,携带 APP 瑞典双突变 K595N/M596L 的 SH-SY5Y 细胞过表达 SPTB Numb,增加了 A β 的产生,而过表达 LPTB Numb 降低了 A β 的产生,因此,不同 Numb 亚型差异性影响 APP 转运^[14]。在撤出营养因子引起的应激条件下,也观察到 Numb 从 LPTB 切换到 SPTB,促进了 A β 的生成。AD 小鼠(3xTg)大脑和 AD 患者顶叶皮质存在 SPTB Numb 亚型表达增加,表明 Numb 亚型的变化在 AD 发病过程中起着一定的作用^[15]。

4 Numb 与细胞信号通路

AD 患者多种神经功能如突触可塑性及神经再生严重受损,而 Notch 信号通路可以调节突触可塑性^[16]及神经再生^[17]。Notch 1 和 2 受体与 APP 存在直接相互作用^[18]。与 APP 类似,Notch 受体是 α 和 γ 分泌酶的底物,这种蛋白水解过程是信号传导的先决条件。 γ 分泌酶抑制剂治疗 AD 可导致

Notch 信号受损^[19]。Numb 与 Notch 信号通路密切相关,各 Numb 亚型对 Notch 信号传导的作用也不同^[20]。LPTB/SPRR Numb 通过招募 E3 泛素连接酶 Itch 而促进 Notch 1 的泛素化^[21]。γ 分泌酶裂解 APP 羧基末端部分结合 Numb 并抑制 Notch^[22]。

AD 患者神经元存在钙离子失衡^[23]。过表达 SPTB Numb 的 PC12 细胞诱导神经突起生长不需要 NGF,但依赖于电压依赖性钙通道的激活^[7-8],这些细胞及培养的皮质神经元更容易受到 Aβ 毒性的影响。此外,Aβ 处理培养皮质神经元可上调 SPTB Numb 亚型表达,提示内源性 Numb 在 AD 相关的神经元死亡过程中起作用^[15]。稳定高表达 SPTB Numb 亚型的 PC 12 细胞表现出较高的 Notch 活性与 Notch 依赖性瞬时受体电位通道 6 (transient receptor potential channel 6,TRPC6) 转录。从培养基中撤出营养因子后,TRPC6 上调导致钙失调和细胞死亡增加^[24]。基因敲除 TRPC6 或 Notch 通路,减轻撤出营养因子诱导的 Numb 所致细胞死亡,TRPC6 的差异表达与钙信号的紊乱及撤出营养因子所致神经元死亡的易感性增加相关,提示 Numb 参与 AD 神经元钙失衡调控。此外,Numb 与细胞周期调节蛋白 Polo 样激酶 1 相互作用(polo-like kinase 1,PLK1)。AD 患者的 PLK1 活性升高,PLK1 沉默可减少 Aβ 诱导的神经细胞死亡^[25]。

另外,Numb 在神经营养因子信号传导中可以促进神经元存活。研究表明,海马神经元中的 TrkA 和 TrkB 内吞作用需要 Numb 结合伴侣及表皮生长因子受体通路底物 15 同源性结构域的参与^[26]。

5 Numb 与神经再生

齿状回的颗粒下区和脑室下区存在神经再生,脑室下区神经再生在人类出生 18 个月 after 大部分停止,而 AD 患者的神经再生能力发生改变。有实验表明,Numb 对于神经上皮细胞架构维护至关重要,Numb 可通过调节 Notch 信号传导在神经再生中起作用^[17]。Numb 蛋白缺失严重影响室管膜完整性和脑室下区的稳态^[27]。

6 小结

体外实验数据显示,Numb 影响神经元分化与生长。在体实验证据表明,SPTB Numb 亚型在 AD 小鼠模型和人类个体中都有增加。而 Numb 在 AD 发病过程中的病理生理机制尚需要进一步实验来证明。对 AD 小鼠的特异性 Numb 亚型的靶向干预将为揭示 Numb 在 AD 中的作用提供独特的视野。Numb 作为潜在药物靶标或生物标志物的临床意义

仍有待未来的研究来证明。然而,进一步阐明 Numb 与 APP 相互作用的生理相关性,可以更全面地了解 AD 的发病机制。

参考文献:

[1] BATOOL S, RAZA H, ZAIDI J, et al. Synapse formation: from cellular and molecular mechanisms to neurodevelopmental and neurodegenerative disorders [J]. *J Neurophysiol*, 2019, 121 (4): 1381-1397.

[2] MORENO-JIMÉNEZ E P, FLOR-GARCÍA M, TERREROS-RONCAL J, et al. Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's disease [J]. *Nat Med*, 2019, 25 (4): 554-560.

[3] SHAN Z, TU Y, YANG Y, et al. Basal condensation of Numb and Pon complex via phase transition during Drosophila neuroblast asymmetric division [J]. *Nat Commun*, 2018, 9 (1): 737.

[4] KIM H, RONAI Z A. Rewired Notch/p53 by Numb'ing Mdm2 [J]. *J Cell Biol*, 2018, 217 (2): 445-446.

[5] LENIHAN J A, SAHA O, HEIMER-MCGINN V, et al. Decreased anxiety-related behaviour but apparently unperturbed NUMB function in ligand of NUMB protein-X (LNX) 1/2 double knockout mice [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54 (10): 8090-8109.

[6] ZHOU L, YANG D, WANG D J, et al. Numb deficiency in cerebellar Purkinje cells impairs synaptic expression of metabotropic glutamate receptor and motor coordination [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112 (50): 15474-15479.

[7] QIAN W, HONG Y, ZHU M, et al. Deletion of Numb/Numbl like in glutamatergic neurons leads to anxiety-like behavior in mice [J]. *Brain Res*, 2017, 1665: 36-49.

[8] LU C B, FU W, XU X, et al. Numb-mediated neurite outgrowth isoform-dependent, and requires activation of voltage-dependent calcium channels [J]. *Neuroscience*, 2009, 161 (2): 403-412.

[9] TARN W Y, KUO H C, YU H I, et al. RBM4 promotes neuronal differentiation and neurite outgrowth by modulating Numb isoform expression [J]. *Mol Biol Cell*, 2016, 27 (10): 1676-1683.

[10] KIM K K, NAM J, MUKOUYAMA Y, et al. Rbfox3-regulated alternative splicing of Numb promotes neuronal differentiation during development [J]. *J Cell Biol*, 2013, 200 (4): 443-458.

[11] NISHIMURA T, YAMAGUCHI T, TOKUNAGA A, et al. Role of numb in dendritic spine development with a Cdc42 GEF intersectin and EphB2 [J]. *Mol Biol Cell*, 2006, 17 (3): 1273-1285.

[12] CISSÉ M, HALABISKY B, HARRIS J, et al. Reversing EphB2 depletion rescues cognitive functions in Alzheimer model [J]. *Nature*, 2011, 469 (7328): 47-52.

[13] CHEN X, LIU Z, SHAN Z, et al. Structural determinants controlling 14-3-3 recruitment to the endocytic adaptor Numb and dissociation of the Numb · α-adaptin complex [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293 (11): 4149-4158.

[14] SUN M, ASGHAR S Z, ZHANG H. The polarity protein Par3 regulates APP trafficking and processing through the endocytic adaptor protein Numb [J]. *Neurobiol Dis*, 2016, 93: 1-11.

[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193 (1) : 52-59.

[26] CORRADI F, BRUSASCO C, PELOSI P. Chest ultrasound in acute respiratory distress syndrome[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2014, 20: 98-103.

[27] 陈水文, 许焯, 刘敬. 肺脏超声对重症监护病房患儿应用价值分析[J]. *中国实用儿科杂志*, 2016, 31 (9) : 681-685.

[28] SEE K C, ONG V, TAN Y L, *et al*. Chest radiography versus lung ultrasound for identification of acute respiratory distress syndrome: a retrospective observational study [J]. *Crit Care*, 2018, 22 (1) : 203.

[29] LICHTENSTEIN D A, MEZIÈRE G, LASCOLS N, *et al*. Ultrasound diagnosis of occult pneumothorax [J]. *Crit Care Med*, 2005, 33 (6) : 1231-1238.

[30] LICHTENSTEIN D A, MEZIÈRE G A. Relevance of lung ultrasound in the diagnosis of acute respiratory failure: the BLUE protocol[J]. *Chest*, 2008, 134 (1) : 117-125.

[31] LICHTENSTEIN D A. Ultrasound examination of the lungs in the intensive care unit[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2009, 10 (6) : 693-698.

[32] RAIMONDI F, RODRIGUEZ FANJUL J, AVERSA S, *et al*. Lung ultrasound for diagnosing pneumothorax in the critically ill neonate[J]. *J Pediatr*, 2016, 175 (2) : 74-78.

[33] MONASTESSE A, GIRARD F, MASSICOTTE N, *et al*. Lung ultrasonography for the assessment of perioperative atelectasis: a pilot feasibility study[J]. *Anesth Analg*, 2017, 124 (2) : 494-504.

[34] LICHTENSTEIN D A, LASCOLS N, PRIN S, *et al*. The “lung pulse”: an early ultrasound sign of complete atelectasis [J]. *Intensive Care Med*, 2003, 29 (12) : 2187-2192.

[35] 李广洪, 白波. 肺脏超声与 X 线检查在新生儿肺不张中的诊断价值比较[J]. *临床合理用药杂志*, 2016, 9 (26) : 139-140.

[36] 欧红萍, 周风勤. 超声在胸腔积液诊断中的应用价值[J]. *临床和实验医学杂志*, 2013, 12 (14) : 1151-1152.

[37] 李黎明, 李莲花, 关键. 肺部超声评分在呼吸机相关性肺炎疗效评价中的作用[J]. *中华内科杂志*, 2016, 55 (12) : 950.

[38] 周梦洁. 肺超声评分评估新生儿感染性肺炎病情严重程度及预后的价值[D]. 衡阳: 南华大学, 2016.

[39] BOUHEMAD B, LIU Z H, ARBELOT C, *et al*. Ultrasound assessment of antibiotic-induced pulmonary reaeration in ventilator-associated pneumonia[J]. *Crit Care Med*, 2010, 38 (1) : 84-92.

[40] 李莲花, 杨倩, 李黎明, 等. 肺部超声评分评估急性呼吸窘迫综合征患者病情严重程度及预后的价值[J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27 (7) : 579-584.

[41] 王均祎. 急性呼吸窘迫综合征患者以肺部超声评分评估病情严重程度及预后的价值研究[J]. *吉林医学*, 2017, 38 (11) : 2064-2066.

[42] IANNIELLO S, PICCOLO C L, BUQUICCHIO G L, *et al*. First-line diagnosis of pediatric pneumonia in emergency: lung ultrasound (LUS) in addition to chest-X ray (CXR) and its role in follow-up[J]. *Br J Radiol*, 2016, 89 (1061) : 20150998.

[43] 安晓玲, 郝荣, 苏海砾. 肺超声在小儿支气管肺炎治疗效果评估中的应用[J]. *中国超声医学杂志*, 2016, 32 (6) : 497-499.

[44] TOMÀ P, OWENS C M. Chest ultrasound in children: critical appraisal[J]. *Pediatr Radiol*, 2013, 43 (11) : 1427-1434.

(本文编辑: 李胜利)

(上接第 595 页)

[15] CHIGURUPATI S, MADAN M, OKUN E, *et al*. Evidence for altered Numb isoform levels in Alzheimer's disease patients and a triple transgenic mouse model [J]. *J Alzheimers Dis*, 2011, 24 (2) : 349-361.

[16] WANG Y, CHAN S L, MIELE L, *et al*. Involvement of Notch signaling in hippocampal synaptic plasticity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101 (25) : 9458-9462.

[17] IMA YOSHI I, SAKAMOTO M, YAMAGUCHI M, *et al*. Essential roles of Notch signaling in maintenance of neural stem cells in developing and adult brains [J]. *J Neurosci*, 2010, 30 (9) : 3489-3498.

[18] CHEN C D, OH S Y, HINMAN J D, *et al*. Visualization of APP dimerization and APP-Notch2 heterodimerization in living cells using bimolecular fluorescence complementation [J]. *J Neurochem*, 2006, 97 (1) : 30-43.

[19] SZARUGA M, VEUGELEN S, BENURWAR M, *et al*. Qualitative changes in human γ -secretase underlie familial Alzheimer's disease [J]. *J Exp Med*, 2015, 212 (12) : 2003-2013.

[20] BERES B J, GEORGE R, LOUGHER E J, *et al*. Numb regulates Notch1, but not Notch3, during myogenesis [J]. *Mech Dev*, 2011, 128 (5/6) : 247-257.

[21] MCGILL M A, DHO S E, WEINMASTER G, *et al*. Numb regulates post-endocytic trafficking and degradation of Notch1 [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (39) : 26427-26438.

[22] RONCARATI R, SESTAN N, SCHEINFELD M H, *et al*. The gamma-secretase-generated intracellular domain of beta-amyloid precursor protein binds Numb and inhibits Notch signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (10) : 7102-7107.

[23] SUPNET C, BEZPROZVANNY I. The dysregulation of intracellular calcium in Alzheimer disease [J]. *Cell Calcium*, 2010, 47 (2) : 183-189.

[24] KYRIAZIS G A, BELAL C, MADAN M, *et al*. Stress-induced switch in Numb isoforms enhances Notch-dependent expression of subtype-specific transient receptor potential channel [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (9) : 6811-6825.

[25] SONG B, DAVIS K, LIU X S, *et al*. Inhibition of Polo-like kinase 1 reduces beta-amyloid-induced neuronal cell death in Alzheimer's disease [J]. *Aging (Albany NY)*, 2011, 3 (9) : 846-851.

[26] VALDEZ G, AKMENTIN W, PHILIPPIDOU P, *et al*. Pincher-mediated macroendocytosis underlies retrograde signaling by neurotrophin receptors [J]. *J Neurosci*, 2005, 25 (21) : 5236-5247.

[27] KUO C T, MIRZADEH Z, SORIANO-NAVARRO M, *et al*. Postnatal deletion of Numb/Numlike reveals repair and remodeling capacity in the subventricular neurogenic niche [J]. *Cell*, 2006, 127 (6) : 1253-1264.

(本文编辑: 孟 月 英文编辑: 孟 月)