

# 神经元 GPI 锚定蛋白结构与功能研究进展

李光涛 隋 玮 刘炳岩

袁建刚 强伯勤 审校

(中国医学科学院基础医学研究所 中国协和医科大学基础医学院, 国家人类基因组北方研究中心,  
医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100055)

**摘要** 神经系统中的 IgSF 蛋白是一类重要的神经细胞表面分子, 种类繁多, 功能多样, 其中一类分子缺乏跨膜区, 通过 GPI 锚结合在细胞膜上, 表现出结构和功能的特异性。本文对该类神经元 GPI 锚定蛋白分子作一系统介绍。根据结构特点, 神经元 GPI 锚定蛋白分子可分为三类, 各类分子通过 Ig 结构域与其自身或其它蛋白分子进行顺式或反式结合, 调节神经细胞活动。

**关键词** 神经元免疫球蛋白超家族; GPI 锚定蛋白

免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily, IgSF)成员蛋白的 Ig 结构域连同其他结构元件, 如 FNIII 结构域等成线性排列, 共同组成蛋白的胞外区<sup>[1]</sup>。在神经细胞表面分布着大量的 IgSF 蛋白, 被归类为神经细胞表面分子。此类细胞表面分子与其他两类同样调节神经功能的表面分子 integrins 和 cadherins 相比, 无论在数量上还是在功能上都更为复杂。神经系统 IgSF 蛋白分子结构多样, 在神经组织功能方面已表现出多方面的作用, 例如: 诱导神经元前体的发散或定向迁移、促使神经突起的成束化或去束化、接触依赖性的轴突引导中的关键性的作用, 以及接触依赖性的对神经突起生长的抑制或刺激作用<sup>[2]</sup>。轴突 IgSF 成员通过跨膜区或 GPI 结构与细胞膜结合, 有些蛋白成员还可以同时以这两种方式结合在细胞膜上。本文主要介绍神经元 IgSF 中的 GPI 锚定蛋白。

## 1 神经元 IgSF 中的 GPI 锚定蛋白的分类

GPI 锚定蛋白是一类广泛存在于细胞表面的蛋白, 这类蛋白的共同点是缺乏跨膜区和胞内结构域, 通过 GPI 结构结合在细胞膜上<sup>[3]</sup>。GPIs (glycosyl phosphatidylinositols) 是一类通过共价键将蛋白、多糖甚至小寡糖结合到细胞膜上的糖脂。各类 GPI 锚定蛋白具有共同的锚结构, 即 GPI 锚。有证据表明<sup>[4]</sup>, GPI 结构能将 GPI 锚定蛋白定位在膜上的特定区域, 而这种定位对于细胞间的相互作用是非常重要的。在神经元的细胞表面存在数量繁多的 GPI 锚定蛋白, 根据结构可分为三个亚类:

### 1.1 F11/F3/contactin, axonin/TAG 1, BIG-1, BIG-2<sup>[2]</sup>

这几种分子有 6 个 C2 型 Ig 结构域和 4 个 FNIII 结构域。BIG-1, BIG-2 和 axonin 1 仅于神经系统表达, 而 F11 在肺和胰腺中也有表达。这类蛋白所有成员均可作为神经元培养时促进神经细胞突起生长的基质, 抗 F11 的抗体的 Fab 片段还能使神经突起发生去束化作用。Axonin 仅在周围神经系统表达, 作为神经元上的受体可与配体 NrCAM 共同调节轴突的生长和定向<sup>[5]</sup>。通过电镜和免疫染色结合的方法发现 axonin 1 在感觉神经元的成束化过程中起重要作用<sup>[6]</sup>。

### 1.2 IgLON<sup>[7]</sup>

IgLON 由 LAMP (limbic system associated protein)、鸦片结合细胞粘附分子 OBCAM (opioid binding cell adhesion molecule) 和 neurotrimin 而得名, 包括后来发现的 AvGP50、GP55、CEPU-1<sup>[7]</sup>, 最近又克隆了 Kilon (a kindred of IgLON)<sup>[8]</sup> 和 Neurotractin<sup>[9]</sup>, 是目前所知最简单的神经元 GPI 锚定蛋白。该类分子胞外仅有三个 C2 型 Ig 结构域, 无 FNIII 结构域等其它部分。体外培养过程中, LAMP 和 neurotrimin 能够特异地促进某些神经细胞突起生长, 同时对另一些神经细胞的突起生长又有抑制作用, 表现出很高的组织特异性。LAMP 最初表达于周围神经系统, 此分布特性与其特殊功能是相符的。向体内注射抗 LAMP 抗体可以干扰海马内的神经纤维放射。OBCAM 集中表达在皮层和海马中, 而 neurotrimin 则较广泛地分布于发育过程中的各脑区。体外培养实验表明, neurotrimin 既能促进 DRG 神经元突起生长, 同时又可抑制 ORG 神经元突起生长<sup>[10]</sup>, 表现出明显的双功能性。鸡 Neurotractin 仅限于在发育中连合的与纵向

的轴突束中表达,促进端脑神经元突起生长,并与 LAMP 和 CEPU-1 相互作用<sup>[9]</sup>。

### 1.3 Thy-1

该蛋白最先发现于小鼠胸腺中,但后来又在中枢神经系统中发现其表达,说明其在免疫系统和神经系统中都有重要作用。但该蛋白以不同的分子量形式表达于不同的系统中,胸腺中 Thy-1 的分子量为 18.7kDa,大于脑中 17.5kDa 的分子。与其他 GPI 锚定蛋白的 C2 型结构域不同的是,Thy-1 的 N 端是一个 V 型 Ig 结构域。在神经系统中,Thy-1 仅表达于神经元细胞表面,而在脑中的胶质细胞中没有表达<sup>[11]</sup>。

## 2 神经元 GPI 锚定蛋白通过蛋白间相互作用调节神经元活动

GPI 锚定蛋白不仅能与同类分子同源结合,也能与不同类分子异源结合。各类 GPI 锚定蛋白分子的结合方式又是非常特异的,如 F11 只能进行异源结合,而 axonin1 既有同源又有异源结合。同时,这种蛋白间的相互作用可发生在同一细胞表面的蛋白分子间,称为顺式结合,如 F3 与同一细胞表面的 TAG-1 间的结合;也可发生在不同细胞表面的蛋白分子间,如不同神经元细胞表面的 axonin1 分子之间、F11 与 NrCAM 分子之间的结合和神经细胞与胶质细胞之间的 axonin1 与 NrCAM、F11 与 RTP 之间的结合;甚至还发生在细胞与细胞基质(ECM)分子之间,如 F11 与细胞基质中的 TN-C 或 TN-R 之间的结合。发生在不同细胞间的结合又称为反式结合。正是通过这些复杂的相互作用,神经细胞与周围环境进行信息交流,并以此指导神经元的活动<sup>[2]</sup>。

GPI 锚定蛋白结合方式的复杂性决定了其功能的多样性。例如,检测不同的神经元细胞,发现 F11 和 axonin1 既可作为配体又可作为受体而存在。即使结合方式相同,也会表现出功能的差异,例如 F11 与其 ECM 配体 TN-R 结合,在抑制小脑神经元作用中起关键作用,同时又可以调节顶盖神经元的突起生长。

TAG-1/axonin 与 F3/F11 是两类紧密相关的 GPI 锚定蛋白,都表达于小脑颗粒细胞的轴突上,小鼠中 TAG-1 仅限于在出生后两周的轴突伸长的发育阶段表达,随后表达量迅速降低。F3 在小鼠出生后两周的轴突伸长的发育阶段也有高表达,且能持续存在于成体小脑内和突触前。将各种神经细胞铺于以 F3 转化的 CHO 细胞上培养,可以促进背根节神经细胞纤维的生长,抑制小脑颗粒细胞的轴突生长,并且

诱导小脑颗粒细胞轴突成束化<sup>[12]</sup>。TAG-1 也能促进脊神经和背根节神经细胞轴突生长,但对小脑颗粒细胞的轴突生长却没有抑制作用。当将 F3、TAG-1 在 CHO 细胞中共表达时,F3 对小脑颗粒细胞轴突生长的抑制作用被 TAG-1 所阻断,并且这种阻断作用与两者的相对含量有关,TAG-1 阳性蛋白为 50% 的共转染细胞对 F3 抑制作用的阻断能力远远超过 TAG-1 阳性蛋白为 30% 的共转染细胞,并且可以完全抑制 F3 诱导的成束化作用。这种蛋白间相互抑制的机制尚不清楚,但有几点可以确定:两者的受体都位于突起的生长锥上;TAG-1 与 F3 在相同膜上相互结合,抗 TAG-1 抗体诱导 TAG-1 聚合的同时,也诱导 F3 分子聚合,且两者都富集于不溶于 Triton X-100 的复合物中,并能从新生脑中被免疫共沉淀下来。这些结果可强有力地支持 F3、TAG-1 在生理条件下相互作用,共同调节小脑颗粒细胞神经突起的生长和束化的猜想。

## 3 Ig 结构域是神经元 GPI 锚定蛋白与其它蛋白结合的必要条件

通过缺失突变的方法研究 F11 蛋白证明,其 N 端的 4 个 Ig 结构域足以结合配体 NgCAM、NrCAM、TN-R 和 TN-C。NgCAM 与 NrCAM 均可结合在前 3 个 Ig 结构域上<sup>[13]</sup>。用结构域特异抗体进行的结合实验分析表明 N-端第 1、2 个 Ig 结构域对于 NgCAM 的结合来说是非常重要的。而 F11 的第 2、3 个 Ig 结构域在其与 NrCAM 或 TN-R 的相互作用中也是关键的。F11 与 NrCAM 的相互作用可促进顶盖神经元突起生长,而 F11 与 NgCAM 复合物的生物学功能尚且不知。F11 与 NrCAM 对顶盖神经元突起生长的促进作用可以被 TN-R 和 F11 之间的相互作用加强。F11 是通过其 Ig 结构域与 TN-R 的 FNIII 结构域结合而发挥作用。F11 同时也能识别 TN-R 中富含半胱氨酸区的类表皮生长因子(EGF-like factors)重复序列,此种识别可避免 F11 对小脑神经元轴突生长的促进作用。对 axonin1 的细致且系统的结构域缺失变异实验表明 axonin1 与 NgCAM 的结合位点也位于其 4 个 Ig 结构域上,4 个 Ig 结构域是与 NgCAM 结合的充分条件。缺失其中任何一个结构域,其 NgCAM 结合功能就会消失殆尽,暗示这些结构域又是必要条件。结构域特异的抗体对其表位定位,认为 4 个 Ig 结构域形成一紧密的结构。但令人奇怪的是,缺乏第 5、6 个 Ig 结构域,axonin1 与 NgCAM 的结合更加牢固,结合强度远远大于野生型的 axonin1。这种特定区域缺失后结合反而加强的原因被推测认

为是由于细胞表面的野生型 axoninr 1 的反折构象导致的,也就是说,axoninr 1 的 4 个 Ig 结构域通过 Ig 与 FNIII 两结构域间的富含甘氨酸/脯氨酸区段向质膜方向反折。这种构象使其 NgCAM 结合位点难以被靠近。缺失 5、6 两个 Ig 结构域之后,4 个 Ig 结构域的反折程度降低或甚至是不可能的,从而导致重组的 axoninr 1 的 4 个 Ig 结构域适于与 NgCAM 相互作用。axoninr 1 分子在电子显微镜下的马蹄型粒子图充分支持了这个猜想<sup>[8]</sup>。虽然 axoninr 1 与 NgCAM 相互结合,但结合位点的缺失却不能终止 axoninr 1 对神经元突起生长的促进作用,因此认为 NgCAM 可能不是 axoninr 1 在神经轴突上的受体<sup>[15]</sup>。现有实验证明它的受体可能是 NrCAM<sup>[15]</sup>。

#### 4 神经元 GPI 锚定蛋白的信号传递模式

GPI 锚定蛋白缺乏胞内区,此结构特征也决定了它们在信号传递中的特殊性。人们猜想胞外配体与 GPI 蛋白结合后,GPI 锚定蛋白再与膜上的跨膜蛋白相结合,将信息通过跨膜蛋白向胞内传递,从而完成信号由胞外到胞内的传递过程。

1997 年,Caspr 受体的发现提供了 contactin 蛋白的一种信号传递模式<sup>[16]</sup>。GPI 锚定蛋白 contactin (F3,F11) 集中表达于中间神经元的接触区,能介导神经元与周围环境之间的相互作用。contactin 与同一细胞上的跨膜蛋白 Caspr (contactin associated protein) 顺式结合,同时还可与临近胶质细胞膜上的受体酪氨酸磷酸酶 (receptor type tyrosine phosphatase, RPTP) 反式结合,促进神经元轴突生长 (图 1)。Contactin 可能是作为相邻细胞间的 RPTP 和 Caspr 的接头来完成信号传递<sup>[17]</sup>。Caspr 可能是顺式作用传递信号的伙伴,因为它具有多个功能结构域,这些结构域能有效地导致蛋白间的相互作用。特别是 Caspr 胞内的富含脯氨酸区,体外实验证明此区能够与 Src 和 Fyn 等蛋白的 SH3 结构域特异地结合。体内实验证实,Caspr 也能与不溶于 Triton 的片段 (可能是 DRMs,也可能是细胞骨架) 相结合。

Contactin 除与 Caspr 顺式结合外,还能与免疫超家族的其它成员顺式作用,包括 NgCAM,NrCAM,虽然这种信号传递的机制尚不清楚。同时,在小鼠脑内,通过免疫共沉淀的方法,contactin、L1 和 Fyn 间的相互作用也被证实了。早期跨膜 Ig 超家族成员蛋白信号通路研究表明,L1 或 NCAM 诱导的神经突起生长过程中有直接或间接的神经元 FGF 受体的激活,FGF (fibroblast growth factors) 受体含有一个胞内

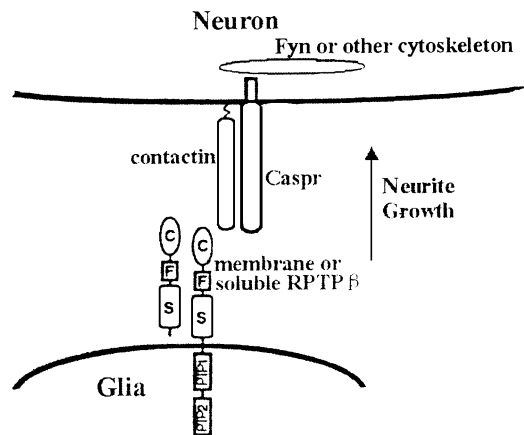


图 1 contactin 蛋白的信号传递模式示意图

酪氨酸激酶结构域。多种抑制剂的使用表明,FGF 受体第二信使通路最终导致钙离子的流入,这一生理过程是促进神经突起生长的必要和充分条件。

#### 5 结论

神经系统神经元 IgSF 中的 GPI 锚定蛋白是一类重要的神经细胞粘附因子,它们的功能是多方面的,共同点是都能促进或抑制特定神经细胞的突起生长,但它们的作用机制尚不表楚。对神经元 GPI 锚定蛋白结构、功能的研究是了解其作用机制和工程应用的基础。近来,在神经元 IgSF 中的 GPI 锚定蛋白的结构和功能的相互关系研究上取得了较大的进展。综合本文所述,可得出下列结论:首先,GPI 锚定蛋白缺乏胞内区,通过 GPI 锚结合在细胞膜上。其次,GPI 锚定蛋白与其他蛋白间的相互作用是复杂的,这种复杂性决定了 GPI 锚定蛋白功能的复杂性和多样性。第三,GPI 锚定蛋白的胞外区除 Ig 结构域外,还有其他的一些结构域,但 GPI 锚定蛋白主要通过 Ig 结构域与其结合蛋白结合。最后,缺乏胞内区的 GPI 锚定蛋白通过与结合在膜上的具有胞内区蛋白结构,向胞内传递信息。虽然目前已取得了上述结果,但在 GPI 锚定蛋白的功能机制方面仍然有许多悬而未解的问题,需要进一步的深入研究。

本研究由 863 国家高技术基金 (863 Z19 02-02 01), 自然科学基金 (39830070) 和国家重点基础研究发展规划项目资助。

#### 参考文献

- [ 1 ] Yoshihara Y, Oka S, Ikeda J et al. Neurosci Res. 1991, 10: 83- 105
- [ 2 ] Volkmer H and Rathjen FG. In: Davies RW and Morris BJ, eds. Molecular biology of the neuron. 1st ed. UK: BIOS Scientific Publishers Ltd, 1997: 284- 288
- [ 3 ] England PT. Ann. Rev. Biochem. 1993, 62: 121- 138

- [ 4 ] Stefanova I, Horejsi V, Ansotegui IJ, et al. Science. 1991, 254: 1016 – 1019.
- [ 5 ] Lustig M, Sakurai T, Grumet M. Dev Biol. 1999, 209(2): 340– 51
- [ 6 ] Xue Y, Horig MG. J Comp Neurol. 1999, 408( 3): 299– 317
- [ 7 ] Pimenta AF, Fischer I, Levitt P. Gene. 1996, 170( 2): 189– 95
- [ 8 ] Funatsu N, Miyata S, Kumanogoh H, et al. J. Biol. Chem. 1999, 274 ( 12): 8224– 30
- [ 9 ] Marg A, Sirim P, Spalman F, et al. J Cell Biol. 1999, 145( 4): 865 – 76
- [ 10] Gil OD, Zanazzi G, Struyk A, et al. J. Neurosci. 1998, 18( 22): 9312 – 9325
- [ 11] Morri RJ and Beech JN. Dev. Neurosci. 1987, 7: 33– 44
- [ 12] Buttiglione M., Revest JM, Pavlou O, et al. J. Neurosci. 1998, 18 ( 17): 6853– 6870
- [ 13] Brummendorf T and Rathjen FG. Cur Opi. Neurobiol. 1996, 6: 584– 593
- [ 14] Yashihara Y, Oka S, nemoto Y, et al. Neuron. 1994, 12: 541– 553
- [ 15] Suter DM, Hynes MA, Skoler KM, et al. J. Cell Biol. 1995, 131: 1067 – 1081
- [ 16] Peles E, Nativ M, Lustig M, et al. EMBO J 1997, 16( 5): 978– 88
- [ 17] Zeng L, D'Alessandri L, Kalousek MB, et al. J Cell Biol. 1999, 147 ( 4): 707– 1

## A Brief View on the Structure and Function Study of the Neuronal GPF anchored Proteins

Li Guang-tao Sui Wei Liu Bir-yan Yuan Jian-gang Qiang Bo-qin

( Institute of Basic Medical Science, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union

Medical College, National center of Human Genome Research, National Laboratory of

Medical Molecular Biology, Beijing 10005, China)

**Abstract** Neuronal IgSF( Ig superfamily) proteins play important roles in radial and tangential migration of neuronal precursors, neurite fasciculation, contact dependent axonal guidance and contact dependent inhibition of neurite growth. Among the neuronal IgSF, there is a subgroup of GPF linked proteins, which are lack of transmembrane domains. In the present review, we focus on the recent study on the classification, structure and their roles in growth cone guidance of the neural GPF linked proteins.

**Key words** Neuronal Immunoglobulin Superfamily, GPF linked proteins

(上接 44 页)

风险投资者和高校学生。《生物技术通报》还刊登与生物技术有关的各类广告及会讯。《生物技术通报》为双月刊, 大 16 开, 64 页, 逢双月 26 日出版, 每期定价 8 元, 全年定价 48 元。统一刊号: CN 11- 2985/Q, 国际标准刊号: ISSN 1002- 5464。订阅办法: 在当地邮局订阅, 邮发代号为 18- 92, 全年定价 48 元, 也可直接向编辑部订阅(免邮费)欲刊登广告的客户, 请与《生物技术通报》编辑部联系。

联系电话: (010) 68919908( 68919903) – 2425( 2405), 传真: ( 010) 68975103, 地址: 100081, 北京海淀区中关村南大街 12 号, 中国农科院文献中心《生物技术通报》编辑部, 联系人: 孙国凤

《应用与环境生物学报》本刊是中国科学院主管、中国科学院成都生物研究所主办、科学出版社出版、国内外公开发行的全国性学术科技期刊(学报级), 是我国应用生物学和环境生物学的核心刊物。主要报道我国应用生物学、环境生物学及相关科学领域的基础研究、应用基础研究和应用研究的成果, 包括研究论文、研究简报和本刊邀约的综述或述评。读者对象主要为本学科的科研人员、大专院校师生和科研管理干部。本刊获中国科学院科学出版基金资助。《应用与环境生物学报》为双月刊( 1999 年由季刊改为双月刊)。双月 25 日出版, 每期 96 页, 2001 年起改为大 16 开, 高档铜板纸印刷。定价仍为每期 11.00 元, 年定价 66.00 元。全国各地邮局(所)均可订阅。新订户可向本刊编辑部补购 1995、1996、1997、1998、1999、2000 年各卷(卷价分别为 32.00 元、44.00 元、44.00 元、44.00 元、66.00 元、66.00 元和 66.00 元)。以及 1999 年增刊(环境微生物学研究), 订价每册 22.00 元。

编辑部地址: 成都市人民南路 4 段 9 号, 中国科学院成都生物研究所学报编辑部。邮编: 610041, 电话: (028) 5229903, 5237341, 联系人: 刘东渝。