

神经粘附分子 CHL1 在神经系统中的研究进展*

黄欣 朱玲玲 范明**

(军事医学科学院基础医学研究所脑保护和可塑性研究室, 北京 100850)

摘要 粘附分子通过介导细胞间相互作用发挥其在发育、再生和突触修饰等方面的重要作用.神经细胞粘附分子 CHL1(close homologue of L1)是近年发现的粘附分子,属于粘附分子免疫球蛋白超家族,集中表达于神经系统,通过亲异性作用(heterophilic interaction)介导细胞与细胞、细胞与胞外基质的相互作用,进而参与神经系统的发育、轴突的生长、迁移及导向等过程.

关键词 免疫球蛋白超家族,神经粘附分子 CHL1,神经系统
学科分类号 Q249, Q189

在神经系统发育过程中,细胞粘附分子(cell adhesion molecule, CAM)是介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质间相互识别、粘附和信号传导的重要信号分子^[1].迄今为止,已发现的 CAM 主要分为 4 大类:免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily)、钙粘素(cadherin)、整合素(integrin)和选择素(selectin).神经细胞粘附分子 CHL1(close homologue of L1)是近年发现的粘附分子,属于粘附分子免疫球蛋白超家族,集中表达于神经系统.目前对于 CHL1 的研究报道较少,但由于其特有的表达特点和典型的免疫球蛋白超家族结构特点,提示其可能在神经系统发育、轴突的生长、突触的可塑性、神经纤维的成束及学习和记忆等过程中发挥功能^[2].现将近年来关于粘附分子 CHL1 的研究进展做一综述.

1 CHL1 的结构及其在神经系统中的表达特点

1.1 结构特点

细胞与细胞的粘附作用与脑的形态发生及学习、记忆密切相关^[3].1996 年, Holm 等在小鼠基因组中克隆到一个与神经粘附分子 L1 高度同源的基因,命名为 CHL1(close homologue of L1).CHL1 的胞外区与 L1 有 60%的一致性,胞内区有 40%的一致性. CHL1 是一种跨膜蛋白,分子质量为 185 ku,包含 N 端信号序列、6 个免疫球蛋白(Ig)样结构

域、5 个纤粘连蛋白Ⅲ(FnⅢ)重复序列、一个跨膜结构域和含有骨架蛋白锚蛋白(anykrin)识别序列(FIGAY)的保守胞内区^[4].

CHL1 可通过外功能区的脱落和释放发挥其生理功能,释放的胞外片段可激活自分泌信号或者降低细胞的粘附促进细胞运动.解聚素金属蛋白酶 ADAM8 在 CHL1 FN 结构域Ⅱ和Ⅴ有 2 个识别位点,通过剪切可释放分子质量为 165 ku 和 125 ku 的蛋白质^[5]; CHL1 含有糖基化的自然杀伤细胞抗原 1 结构,因此,CHL1 也被认为是一种神经识别分子(neural recognition molecule).

1.2 CHL1 在中枢神经系统中的表达特点

通过蛋白质印迹检测 CHL1 在神经发育过程和成体脑中的表达情况后发现:在胚胎期 E11 的前脑没有检测到 CHL1 的表达, E13 有较弱的表达, E18 到新生后 7 天表达最高,出生后 15 天表达稍降低,4 周后表达明显降低. CHL1 在前脑中的表达与其同源基因 L1 类似,但 L1 在出生 4 周后的表达没有变化^[6].CHL1 限制性地表达于某些特定的神经元,尤其以丘脑和海马神经元最为明显.在出生 7 天的小鼠海马锥体细胞中,CHL1 在 CA1 区的表

*国家自然科学基金资助项目(30670792).

** 通讯联系人. Tel: 010-66931301, Fax: 010-68213039

E-mail: fanming@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2007-02-05, 接受日期: 2007-03-30

达高于 CA2 区和 CA3 区.出生 3 周后, CA1 区和 DG 的表达高于 CA2、CA3 和 CA4 区.利用原位杂交分析体内 CHL1 在胶质细胞中的表达后发现: CHL1 仅在视神经的筛板中表达, 且体内成熟的少突胶质细胞不表达 CHL1 mRNA.

L1 家族成员均特异地在神经元中表达, 仅有小部分成员在胶质细胞中表达. CHL1 在原代培养的神经元、胶质细胞和一些神经源细胞系中表达. CHL1 在体外培养的 GFAP 阳性胶质细胞中表达, 诱导分化后的少突胶质前体细胞中 CHL1 表达下调. 在外周神经系统中, 未成熟和非髓鞘化施旺细胞均表达 CHL1. 这些结果说明, CHL1 在中枢和外周神经系统中的神经元、胶质细胞、施旺细胞、少突胶质细胞中均表达^[7].

比较 CHL1 和 L1 的表达模式后发现: L1 在成熟胶质细胞和未成熟少突胶质细胞中不表达. 但在外周神经系统中, CHL1 和 L1 在未成熟和非髓鞘化施旺细胞中有相同的表达模式. Seilheimer 和 Schachner 等证明 L1 能促进未成熟和非髓鞘化施旺细胞的轴突生长和髓鞘形成. 在外周神经系统华勒氏变性(Wallerian degeneration)情况下, 一旦轴突生长发生, L1 的表达增加. 在中枢神经系统, L1 在胶质细胞中不表达, CHL1 的表达提示, 它可能参与损伤后神经元连接的重建. 在损伤过程中, 轴突的生长被抑制. CHL1 在损伤的视神经、脊髓中表达上调, 推测 CHL1 可能以膜结合形式参与排斥作用从而抑制细胞生长^[8]. 此外, CHL1 的表达与细胞分化密切相关. 出生 2 周的小鼠体内只能在迁移后的颗粒细胞中检测到 CHL1 mRNA, 说明 CHL1 是在小脑颗粒细胞迁移至内颗粒层后表达的, 在脑的其他区域, 如端脑, CHL1 的表达伴随细胞的分化而降低, 推测 CHL1 的表达受细胞分化状态的调控^[9].

2 CHL1 的功能研究进展

2.1 CHL1 与轴突生长

CHL1 可促进神经细胞轴突生长、迁移及目标识别. Holm 等分别对转染 CHL1 的海马神经元和小脑颗粒细胞进行轴突生长分析, 转染后的 2 种细胞均能明显促进轴突生长. 经过 12 h 培养, 轴突的长度比对照组(转染 L1 的细胞)增加了 60%. CHL1 在海马神经元中表达, 而在颗粒细胞中不表达, 但经转染后的 2 种细胞均能显著促进轴突的生长, 这也说明 CHL1 介导的细胞相互作用是不通过亲同性粘附作用介导的; 并且这种作用不依赖于 Ca^{2+} 介导

的细胞聚集通路, 这一现象与 L1 家族其他成员 F3/F11/contactin、BIG-1/PANG 和 BIG-2 相同^[10]. 此外, CHL1 胞外区第 2 个 Ig 结构域存在整合素(integrin)结合序列 RGD(Arg-Gly-Asp), 第 6 个 Ig 结构域存在介导整合素(integrin)与胶原蛋白相互作用的序列 Asp-Gly-Glu-Ala (DGEA), 从而激活 pp60c-src, PI3 kinase 和 ERK1/2 促进皮层神经元的迁移.

CHL1 激活的细胞内信号通路还可能与成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)受体有关. FGF 受体上含有与细胞粘附分子结合的结构域(cell adhesion molecular homology domain, CHD). CHL1 可能通过与 CHD 上的同源结构域结合来调节 FGF 受体(FGFR)活性. 而 FGFR 又激活磷脂酶 C_γ (phospholipase C_γ , PLC_γ)产生甘油二酯(diacylglycerol, DAG), 通过电压依赖性钙通道诱导 Ca^{2+} 内流, 启动细胞内信号转导途径, 最终导致细胞的分化、增殖、迁移和存活^[11].

2.2 CHL1 与原代培养神经元的存活

许多神经营养因子可以促进体外培养运动神经元的存活. 在从大鼠 E14 胚胎中纯化、缺少营养因子 BDNF 的运动神经元中加入 CHL1-Fc 融合蛋白, 进行培养, 与对照组相比, 50%的运动神经元在添加 CHL1 后能够存活. CHL1 的促进细胞存活作用能完全被 PI3K 和 MAPK 的抑制剂 LY294002 和 PD98059 阻断, 说明 CHL1 可能通过 PI3 K/Akt kinase 和 MAPK 通路发挥它的促存活作用^[12].

Chen 等^[13]发现, 在无血清培养诱导小鼠小脑颗粒细胞神经元和大鼠海马神经元凋亡后, 加入 CHL1-Fc 后能明显地抑制神经细胞的凋亡, 存活的神经元达到 45%, 可溶性 CHL1 和以 CHL1 为基质进行培养均能发挥作用. 通过蛋白质印迹检测凋亡相关蛋白 Bcl-2、C-Jun 的表达, Bcl-2 表达上调, C-Jun 表达下调, 提示 Bcl-2 可能是 CHL1 促进神经细胞存活作用的调控蛋白质之一.

2.3 CHL1 与皮层发育

CHL1 在迁移的锥体神经元前体细胞中呈现梯度表达, 在皮层尾侧高表达喙侧低表达; 这种选择性的表达提示, 它可能参与神经元迁移的调控, 与细胞建立特异性的连接密切相关. CHL1-/-小鼠视皮层和嗅皮层锥体神经元从 deep layer 迁移至薄层过程中发生错误的定向, 形成倒置的顶树突, 显著降低皮层神经元的放射状迁移. 在新生小鼠皮层发育过程中, CHL1 对皮质神经元定位和树突投射有

重要的作用. CHL1^{-/-}小鼠的海马苔状纤维结构紊乱、嗅觉神经元轴突投射异常, 说明 CHL1 在轴突伸展、寻路和建立神经元网络的过程有重要作用^[14]. 有趣的是, 在 *Sema3A* 和 *fyn* 突变的小鼠皮层锥体神经元中也观察到倒置的顶状树突, 它们共同调控着顶状树突的定位, 而 L1 Ig1 结构域中 FASNRL 序列能与 *Sema3A* 的受体 *neuropilin-1* 结合, 并且在 L1^{-/-}小鼠中也观察到视皮层和嗅皮层锥体神经元树突的错误定向, CHL1 Ig1 结构域中也含有与 FASNRL 高度同源的序列 FASNRL, 提示 L1 与 CHL1 在功能上可能有重叠^[15, 16].

2.4 CHL1 与学习记忆

人的 CHL1 基因与智力发育相关, CHL1 的缺失或突变导致人 3 号染色体短臂末端的缺失, 促发 3p 综合症和精神分裂^[17]. 连锁分析表明, CHL1 是精神分裂的易感因子之一, 与精神分裂患者相同的是, CHL1^{-/-}小鼠前脉冲抑制(*prepulse inhibitor*)减少、工作记忆能力降低以及社会行为减少. 水迷宫实验发现: CHL1^{-/-}小鼠对新环境的反应与正常组不同, 提示 CHL1 可能影响信息处理的过程, 导致精神损伤和行为异常^[18]. 最近的《科学》(*Science*)杂志报道: CHL1 与一些保守的非编码序列(*conserved noncoding sequences, CNSs*)结合, 调控人类脑进化基因 (*brain evolution gene*), 使人类比黑猩猩更聪明^[19].

分析出生 3 周 CHL1^{-/-}小鼠海马 CA1 区形态和电生理特性发现: 在正常生理条件下, 与同窝生 CHL1^{+/+}相比, CHL1^{-/-}小鼠 CA1-CA3 区兴奋性突触 LTP 减少, 应用 GABA_A 受体拮抗剂可以消除上述现象, 通过最小程度的刺激中间神经元的突起, 可以增加 CHL1^{-/-}锥体细胞抑制性突触后电流, 说明 CHL1^{-/-}小鼠 LTP 的损伤与这些抑制作用的增强有关^[20].

2.5 CHL1 与突触囊泡的形成

突触囊泡来源的重要途径是直接来源于内吞囊泡即囊泡的循环利用, 而网格蛋白(*clathrin*)介导的胞吞过程是突触囊泡补充的主要途径^[21]. Iryna 等在寻找 CHL1 胞内结合蛋白的过程中发现: CHL1 在突触前膜上聚集, 并且与 HSC70 结合, CHL1 的缺失抑制了 HSC70 在突触质膜和突触小泡中的靶向作用. HSC70 属于 HSP70 家族的一种分子伴侣, 参与 *clathrin* 去包被作用. HSC70 具有 ATP 酶活性, 充当衣被解体的 ATP 酶. 当衣被小泡从膜上释放后, 衣被在 HSC70 作用下很快就解体.

CHL1 参与了突触囊泡介导的内吞作用. 当 CHL1 的缺失或 CHL1/HSC70 复合体解离后 *clathrin-coated* 突触小泡的浓度很高, 释放 *clathrin* 的能力降低, 破坏囊泡循环中 *clathrin-coated* 介导的突触囊泡内吞作用. 此外, CHL1/HSC70 复合体的解离以活性依赖形式抑制 *clathrin-coated* 突触小泡的产生, 导致突触摄取和释放 FM 荧光染料标记的囊泡能力受损. 而突触囊泡循环利用率的降低, 影响大脑神经回路和信息处理能力, 从而引发了 CHL1^{-/-}小鼠的精神和行为损伤^[22].

3 小结及展望

CHL1 在神经系统的发育中具有重要作用, 但它激活的细胞内信号通路仍然不十分清楚. 对于 L1 家族的大部分成员而言, 如 L1、NCAM、TAG-1 等, 它们都是通过亲同性或亲异性相互作用介导细胞间信号通路的, CHL1 不能自身结合的特点说明它的作用机制有别于其他粘附分子^[23]. 因此, 研究 CHL1 胞外结构域的相互作用分子, 以及引起胞内域激活的信号转导通路是亟待解决的问题.

参 考 文 献

- Walsh F S, Doherty P. Neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily: Role in axon growth and guidance. *Annu. Rev Cell Dev Biol*, 1997, **13**: 425~456
- Brummendorf T, Kenwrick S, Rathjen F G, *et al.* Neural cell recognition molecule L1: from cell biology to human hereditary brain malformations. *Curr Opin Neurobio*, 1998, **8** (1): 87~97
- Holm J, Hillenbrand R, Steuber V, *et al.* Structural features of a close homologue of L1 (CHL1) in the mouse: a new member of the L1 family of neural recognition molecules. *Eur J Neurosci*, 1996, **8** (8): 1613~1629
- Maness P F, Schachner M. Neural recognition molecules of the immunoglobulin superfamily: signaling transducers of axon guidance and neuronal migration. *Nature Neuroscience*, 2007, **10** (1): 19~28
- Montag-Sallaz M, Schachner M, Montag D. Misguided axonal projections, neural cell adhesion molecule 180 mRNA upregulation, and altered behavior in mice deficient for the close homolog of L1. *Molecular and Cellular Biology*, 2002, **22** (22): 7967~7981
- Naus S, Moss M, Schachner M, *et al.* Ectodomain shedding of the neural recognition molecule CHL1 by the metalloprotease-disintegrin ADAM8 promotes neurite outgrowth and suppresses neuronal cell death. *J Biol Chem*, 2004, **279** (16): 16083~16090
- Montag-Sallaz M, Schachner M, Montag D. Misguided axonal projections, neural cell adhesion molecule 180 mRNA upregulation, and altered behavior in mice deficient for the close homolog of L1. *Mol Cell Biol*, 2002, **22** (22): 7967~7981

- 8 Zhang Y, Schachner M, Lieberman A R, *et al.* Expression of CHL1 and L1 by neurons and glia following sciatic nerve and dorsal root injury. *Mol Cell Neurosci*, 2000, **16**: 71~86
- 9 Seilheimer B, Schachner M. Studies of adhesion molecules mediating interactions between cells of peripheral nervous system indicate a major role for L1 in mediating sensory neuron growth on schwann cells in culture. *J Cell Biol*, 1988, **107** (2): 341~351
- 10 Hillenbrand R, Molthagen M, Montag D, *et al.* The close homologue of the neural adhesion molecule L1 (CHL1): patterns of expression and promotion of neurite outgrowth by heterophilic interactions. *Eur J Neurosci*, 1999, **11**(3): 813~826
- 11 Thelen K, Kedar V, Midkiff B R, *et al.* The neural cell adhesion molecule L1 potentiates integrin-dependent cell migration to extracellular matrix. *J Neuroscience*, 2002, **22** (12): 4918~4930
- 12 Kolkova K, Berezin V, Bock E, *et al.* Neural cell adhesion molecule-stimulated neurite outgrowth depends on activation of protein kinase C and the Ras-mitogen-activated protein kinase pathway. *J Neuroscience*, 2000, **20** (6): 2238~2246
- 13 Nishimune H, Chen S, Schachner M, *et al.* Neural adhesion molecules L1 and CHL1 are survival factors for motoneurons. *J Neuroscience Research*, 2005, **80** (5): 593~599
- 14 Chen S, Mantei N, Schachner M. Prevention of neuronal cell death by neural adhesion molecules L1 and CHL1. *J Neurobiol*, 1998, **38**: 428~439
- 15 Demyanenko G P, Schachner M, Maness P, *et al.* Close homolog of L1 modulates area-specific neuronal positioning and dendrite orientation in the cerebral cortex. *Neuron*, 2004, **44** (1): 423~437
- 16 Castellani V, De Angelis E, Kenwrick S, *et al.* Cis and trans interactions of L1 with neuropilin-1 control axonal responses to semaphorin 3A. *EMBO J*, 2002, **21**: 6348~6357
- 17 Buhusi M, Midkiff B R, Schachner M, *et al.* Close homolog of L1 is an enhancer of integrin-mediated cell migration. *J Biological Chemistry*, 2003, **278** (27): 25024~25031
- 18 Chen Q Y, Chen Q, He L, *et al.* Case-control association study of the close homologue of L1 (CHL1) gene and schizophrenia in the Chinese population. *Schizophr Res*, 2005, **73**: 269~274
- 19 Prabhakar S, Noonan J P, Pääbo S, *et al.* Accelerated evolution of conserved noncoding sequences in humans. *Science*, 2006, **314** (5800): 786~788
- 20 Pratte M, Rougon G, Schachner M, *et al.* Mice deficient for the close homologue of the neural adhesion cell L1 (CHL1) display alterations in emotional reactivity and motor coordination. *Behav Brain Res*, 2003, **147**: 31~39
- 21 Granseth B, Odermatt B, Royle S J, *et al.* Clathrin-mediated endocytosis is the dominant mechanism of vesicle retrieval at hippocampal synapses. *Neuron*, 2006, **51** (6): 773~786
- 22 Leshchyns I, Sytnyk V, Richter M, *et al.* The adhesion molecule CHL1 regulates uncoating of clathrin-coated synaptic vesicles. *Neuron*, 2006, **52** (6): 1011~1025
- 23 Morellini F, Lepsveridze E, Schachner M. Reduced reactivity to novelty, impaired social behavior, and enhanced basal synaptic excitatory activity in perforant path projections to the dentate gyrus in young adult mice deficient in the neural cell adhesion molecule CHL1. *Mol Cell Neurosci*, 2007, **34** (2): 121~136

Advance in The Neural Adhesion Molecule CHL1 in Nervous System*

HUANG Xin, ZHU Ling-Ling, FAN Ming**

(Institute of Basic Medical Science, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract Cell adhesion molecules (CAMs) play important roles in specifying cell-cell interactions during development, regeneration, and modification of synaptic activity. The close homolog of L1 (CHL1), a recently identified member of the immunoglobulin superfamily of cell adhesion molecules, is localizably expressed in the nervous system. CHL1 interacts with like molecules (homophilic interaction) and non-like molecules (heterophilic interaction) on neighboring cells or the extracellular matrix to regulate axon outgrowth and fasciculation, neuronal migration and survival, synaptic plasticity and regeneration after trauma.

Key words immunoglobulin superfamily, neural adhesion molecule CHL1, nervous system

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (30670792).

**Corresponding author. Tel: 86-10-66931301, Fax: 86-10-68213039, E-mail: fanming@nic.bmi.ac.cn

Received: February 5, 2007 Accepted: March 30, 2007