

神经系统中富亮氨酸重复序列跨膜蛋白的功能研究进展*

徐刚^{1, 2)} 武明花^{1, 3)**} 李桂源¹⁾

¹⁾中南大学肿瘤研究所, 教育部癌变与侵袭原理重点实验室, 卫生部癌变原理重点实验室, 长沙 410078;

²⁾ 南华大学医学院, 衡阳 421001; ³⁾ 湖南省颅底外科与神经肿瘤临床医疗技术研究中心, 长沙 410078)

摘要 富亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)是一种常见的蛋白质结构域。含有富亮氨酸重复序列的蛋白质简称 LRR 蛋白。LRR 蛋白在真核生物和原核生物的细胞和组织中广泛分布, 其定位的特异性以及与之相互作用蛋白质的复杂性, 决定了 LRR 蛋白功能的多样性。许多 LRR 蛋白相对特异性表达于神经系统, 绝大多数在神经系统中高表达的 LRR 蛋白属于跨膜蛋白, 它们主要作为细胞黏附分子或配体结合蛋白参与突触的形成、神经突起的生长发育、神经递质的转移和释放等神经系统正常生理活动。LRR 蛋白的异常表达将会导致神经、精神系统疾病的发生。

关键词 富亮氨酸重复序列, 跨膜蛋白, 神经系统, 结构, 功能

学科分类号 R73-3, R739, R730.5, Q74

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00291

富亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)是一种常见的蛋白质结构域。通常由 20~29 个氨基酸残基组成, 因富含疏水性的亮氨酸而得名^[1]。2~45 个 LRR 串联形成的弧形超螺旋空间结构中, 保守序列形成一个容易和其他蛋白质结合的疏水性核心, 增强蛋白质之间的亲和力和相互作用^[2]。含有富亮氨酸重复序列的蛋白质简称 LRR 蛋白, 在真核生物和原核生物中分布广泛, 并且在多种组织和细胞中表达, 其定位的特异性以及与之相互作用蛋白质的复杂性, 决定了 LRR 蛋白功能的多样性。目前的研究已经证实, LRR 蛋白可以作为酪氨酸激酶受体、细胞黏附分子以及细胞外基质糖蛋白等参与许多生物学上的重要过程, 如激素-受体的相互作用、细胞黏附以及细胞内转运等^[3]。许多 LRR 蛋白相对特异性表达于神经系统, 表明这些蛋白质在神经系统的发育和分化中具有重要作用。值得注意的是, 绝大多数神经系统中高表达的 LRR 蛋白属于跨膜蛋白。

1 神经组织中 LRR 跨膜蛋白的结构特征

神经系统中的 LRR 跨膜蛋白除了含有 LRRs 及其两侧的 LRRCT(C-terminal)和 LRRNT(N-terminal)

结构外, 还含有 Ig-C₂ 样结构域(immunoglobulin C₂-set domain)和(或)FN-III 样结构域(fibronectin type III)(表 1)。Ig-C₂ 样结构域是由数个 β 折叠组成的夹层结构, 常见于细胞间的相互识别、细胞表面受体和自身免疫系统^[4]。FN-III 样结构域则为 2 个相似的多肽链组成的二聚体, 主要涉及细胞的黏附、生长、迁移和分化^[5]。nLRRs+/-Ig-C₂+/-FN-III 这一相对固定的排列顺序构成 LRR 跨膜蛋白细胞外结构的主要特征。3 种结构域间的相互作用鲜有报道, 仅在 LINGO-1 的研究中发现 Ig-C₂ 样结构域与 LRRs 构成近 90° 夹角, 使得 LRRs 的凸面相互靠近, 这样的 4 个蛋白质分子在细胞膜表面形成首尾相连的四聚体, 组成一个更适合蛋白质相互作用的空间构象^[6]。LRR 跨膜蛋白的细胞内结构含有不同的蛋白质作用位点, 如 NGL-1 的 PDZ 结合区^[7]、

* 国家自然科学基金(81171932)和湖南省自然科学基金杰出青年基金(11JJ1013)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0731-82355401, E-mail: wuminghua554@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-06-27, 接受日期: 2011-09-30

LRIG-1 的蛋白激酶 c 磷酸化位点^[8]. 细胞内、外结构由跨膜区(transmembrane, TM)连接. 这些特征是 LRR 跨膜蛋白在神经系统中作用多样性的结构

基础. 主要作为细胞黏附分子和配体结合蛋白参与突触的形成、神经突起的生长及神经递质的转运和释放.

Table 1 LRR transmembrane protein in nervous system

表 1 神经系统中的 LRR 跨膜蛋白

家族	家族成员	定位	蛋白质结构					生物学功能	疾病	参考文献
			细胞外			TM	细胞内			
			LRR	IgC ₂	FNIII					
LINGOs	LINGO-1 LINGO-2 LINGO-3	神经系统中特异性表达, 主要在海马、新皮质和纹状体.	12	1	-	TM	酪氨酸激酶磷酸化位点	负调控轴突再生和髓鞘形成.	神经损伤后修复	[6, 9-10]
LRIGs	LRIG-1 LRIG-2 LRIG-3	LRIG-1 在各种组织中表达, 在脑组织中表达最高.	15	3	-	TM	蛋白激酶 c 磷酸化位点	候选抑癌基因.	多种类型肿瘤	[8, 11]
NGLs	NGL-1 NGL-2 NGL-3	脑组织相对特异性蛋白, 主要定位在兴奋性突触后膜.	9	1	-	TM	PDZ 结合区	促进突触的形成及塑形, 引导轴突的生长和迁徙.	神经胶质细胞瘤	[12-14]
LRRTMs	LRRTM-1 LRRTM-2 LRRTM-3 LRRTM-4	LRRTM-1 主要在大脑皮质表达, 其他成员表达广泛.	10	-	-	TM	可能存在 PDZ 结合区	促进突触的形成, 突触小泡的转运.	精神分裂症	[15-16]
SALMs	SALM-1 SALM-2 SALM-3 SALM-4 SALM-5	各种神经细胞的轴突、树突、生长锥.	6	1	1	TM	PDZ 结合区	促进神经生长.	不详	[17-18]
SLITRKs	SLITRK-1 SLITRK-2 SLITRK-3 SLITRK-4 SLITRK-5 SLITRK-6	SLITRK 1~5 为神经系统特异性蛋白, 主要分布在大脑皮层.	11	-	-	TM	酪氨酸激酶磷酸化位点	SLITRK-1 促进神经生长, 而其他 SLITRKs 抑制神经生长.	神经性精神失常	[19-20]
FLRTs	FLRT-1 FLRT-2 FLRT-3	脑组织中分布广泛.	10	-	1	TM	未知特别的结构域	促进神经细胞的生长.	不详	[21-22]
AMIGOs	AMIGO-1 AMIGO-2 AMIGO-3	AMIGO 为脑组织特异性蛋白, 主要定位在海马神经元.	6	1	-	TM	未知特别的结构域	促进神经细胞的生长, 促进轴突神经束的形成, 促进髓鞘的形成.	不详	[23-24]
Alivins	Alivin-1 Alivin-2 Alivin-3	分布广泛, 主要在小脑颗粒神经元和海马 CA1 与 CA3 之间区域.	7	1	-	TM	未知特别的结构域	维持神经元的活性及抗凋亡、突触小泡的释放.	家族性阿兹海默氏症, 帕金森氏综合症	[25]
NLRRs	NLRR-1 NLRR-2 NLRR-3 NLRR-4	神经系统中广泛表达.	12	1	1	TM	网格蛋白介导的内吞模体	NLRR-3 促进 Ras-MAPK 通路, NLRR-4 与海马依赖性长久记忆相关.	不详	[26-27]
	Pal	视网膜特异性蛋白.	5	1	1	TM	未知特别的结构域	光刺激转换为神经冲动, 神经营养因子受体.	视网膜色素变性综合症	[28]
	LRRC4	脑组织相对特异性蛋白.	7	1	-	TM	PDZ 结合区	候选抑癌基因.	胶质细胞瘤	[29-30]

2 神经组织中 LRR 跨膜蛋白的功能研究

2.1 LRR 跨膜蛋白与突触的形成

突触是神经系统活动的基本单位. LRR 跨膜蛋白细胞外的 LRRs 结构提供了一个蛋白质黏附和结合的框架, 而细胞内的蛋白质结合位点能够与不同的效应蛋白相互作用. 这是跨越两个神经元之间的间隙、形成突触的关键因素. NGLs 主要分布在神经细胞的突触后膜, 通过 LRRs 结构分别与突触前膜的 netrin-G1、netrin-G2 和 LAR 蛋白结合, 形成跨突触连接^[12]. netrin-G1-NGL-1、netrin-G2-NGL-2、LAR-NGL-3 能够诱导神经细胞内 PSD-95、GKAP、Shank 等蛋白质的聚集, 促进突触后膜的形成. 同时, LAR-NGL-3 诱导突触前结构蛋白的聚集, 促进突触前膜的形成^[13]. 功能类似的还有 LRRTMs^[15] 和 SALMs^[17], 主要通过 PSD-95 蛋白相互作用, 促进突触后膜的形成, 并在轴突接触到其他细胞形成突触连接的过程中指导突触前膜的形成. NGL-1 多分布在树突的远体端, 而 NGL-2 更倾向于树突的近体端, 它们通过募集不同的神经细胞内蛋白质, 决定树突膜局部片段的塑形^[12]. 以上例证说明, LRR 跨膜蛋白的跨突触黏附在突触形成和分化过程中起到至关重要的作用.

2.2 LRR 跨膜蛋白与神经突起的生长发育

神经突起包括轴突和树突, 位于神经突起最前缘的生长锥表面存在各种导向因子受体, 能识别并传递环境中吸引或排斥信号, 通过调节生长锥内的细胞骨架重组来引导神经突起沿特定路线生长. Slitrks 调控神经突起生长的作用是双重性的: 一方面, 由于其细胞外结构与 Slits 的高度同源性, 使得其可能是轴突导向因子; 另一方面, Slitrks 细胞内结构中特异性酪氨酸残基片段与 NGF(nerve growth factor)受体 TrkA 类似, Slitrks 可能作为一种营养因子受体或受体辅组蛋白促进神经突起的生长^[19]. FLRT-1 与相应配体结合后, 在非受体型酪氨酸激酶 SFK (src family kinase)介导下磷酸化, 通过调节与 FGF(fibroblast growth factor)受体相关的信号通路, 参与神经突起生长的调控^[21]. AMIGOs 能够与某些神经营养因子结合, 促进轴突神经束的形成. 其表达与少突胶质细胞标记蛋白 α -CNPase 同步, 有助于轴突和胶质细胞间的联系, 促进髓鞘的形成^[23]. 以上例证说明, LRR 跨膜蛋白主要作为配体结合蛋白参与神经突起的生长发育.

2.3 LRR 跨膜蛋白与神经递质的转移和释放

在中枢神经系统中, 突触传递最重要的方式是化学性神经递质的传递. Ca^{2+} 内流是这一过程的必要因素. Alivin-1 的表达与 Ca^{2+} 内流正相关, 用 Ca^{2+} 通道拮抗剂河豚毒素能明显抑制其表达, 说明 Alivin-1 与神经递质释放相关^[25]. NGL-3 与 LAR 结合, 通过 liprin- α 蛋白与突触前膜活跃区蛋白 RIM 和 ELKS/ERC 相互作用, 参与突触小泡的运输^[14]. LRRTM 则通过调控囊泡膜谷氨酸转运体 VGLUT-1 的分布, 控制突触小泡的转运, 影响神经递质的释放^[15].

2.4 LRR 跨膜蛋白与神经系统的其他生物学功能

NLRR-3 胞质尾部的网格蛋白内吞模体促进 EGF (epidermal growth factor)的内化进程, 影响 Ras-MAPK 信号传导通路, 参与神经细胞的生长、发育和凋亡等生理活动^[26]. NLRR-4 缺陷型小鼠的海马依赖型长期记忆严重受损, 而不依赖海马的短期记忆和永久性记忆不受影响. NLRR-4 可能是通过改变 CREB (cAMP responsive element binding protein)信号通路来参与记忆的转换和储存^[27]. Pal 是一种视网膜特有蛋白质, 主要在视杆细胞及相关双极细胞中表达, 参与将光刺激转换为神经冲动的过程^[28].

3 LRR 跨膜蛋白与神经系统疾病

LRRC4 是我们课题组采用 EST 介导的定位候选克隆策略结合 5'-RACE 技术, 从染色体 7q31-32 克隆出来的一个在脑组织中特异性表达的基因, 2001 年 6 月, 由人类基因组命名委员会正式命名 (GenBank 登录号为 AF196976)^[29]. 韩国的 Woo 研究小组^[13]2006 年发现 LRRC4 是神经生长因子的配体蛋白(netrin-G ligand), 并将其命名为 NGL-2. 我们的研究表明, LRRC4 在神经胶质瘤中低表达或表达缺失^[30]. LRRC4 蛋白依靠 LRR 结构域抑制 ERK/AKT/NF- κ Bp65 信号通路, 通过 LRR、IgC2、TM 结构域协同调控 STAT3 或 JNK2/c-Jun/p53 信号通路, 共同将 U251 细胞阻滞在 G0/G1 期, 抑制 U251 细胞的生长和侵袭^[31]. 启动子的甲基化和 hsa-miR-381 的干扰可能是 LRRC4 失活的原因^[32-33]. LRRTM 与父系遗传的左撇子和精神分裂症有关^[16]. Alivin-1 基因定位在染色体 12q13.11, 可能是家族性阿尔兹海默症和帕金森氏综合症的致病基因^[25]. LRIG-1 基因定位于染色体的 3p14, 人类多种类型的肿瘤在这一区域存在杂合性缺失, 因此可能是一

种潜在的肿瘤抑制基因^[11]。此外, Slitrks 的表达异常与神经性精神失常的发病密切相关^[20]。

4 展 望

随着人类对 LRR 蛋白多角度、深层次的认识和了解, LRR 蛋白的结构特征和生物学功能研究进展迅速, 但是仍然有许多问题有待解决。传统观念认为神经元不具备更新能力, 一旦受损乃至死亡将不能再生。神经干细胞概念的提出打破了神经细胞不能再生的传统理论。神经干细胞是一群能自我更新, 并具有多种分化潜能的细胞, 它来源于神经组织并可生成神经组织, 在适当的条件下可分化成神经元、少突胶质细胞和星形细胞等。LRR 跨膜蛋白作为重要的细胞黏附分子和配体结合蛋白在神经干细胞的定向分化、迁徙和定居过程中的作用无疑将成为研究的新方向。

参 考 文 献

- [1] Takahashi N, Takahashi Y, Putnam F W. Periodicity of leucine and tandem repetition of a 24-amino acid segment in the primary structure of leucine-rich α 2-glycoprotein of human serum. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, **82**(7): 1906-1910
- [2] Enkhbayar P, Kamiya M, Osaki M, *et al.* Structural principles of leucine-rich repeat (LRR) proteins. *Proteins*, 2004, **54**(3): 394-403
- [3] Ng A C, Eisenberg J M, Heath R J, *et al.* Human leucine-rich repeat proteins: a genome-wide bioinformatic categorization and functional analysis in innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(Supplement 1): 4631-4638
- [4] Mikulska K, Pełowski L, Nowak W. Nanomechanics of Ig-like domains of human contactin (BIG-2). *J Mol Model*, 2011, **17**(9): 2313-2323
- [5] Thompson M G, Foley D A, Swartzentruber K G, *et al.* Sequences at the interface of the fifth immunoglobulin domain and first fibronectin type III repeat of the neural cell adhesion molecule are critical for its polysialylation. *J Biol Chem*, 2011, **286**(6): 4525-4534
- [6] Mosyak L, Wood A, Dwyer B, *et al.* The structure of the Lingo-1 ectodomain, a module implicated in central nervous system repair inhibition. *J Biol Chem*, 2006, **281**(47): 36378-36390
- [7] Kim S, Burette A, Chung H S, *et al.* NGL family PSD-95-interacting adhesion molecules regulate excitatory synapse formation. *Nature Neuroscience*, 2006, **9**(10): 1294-1301
- [8] Yi W, Haapasalo H, Holmlund C, *et al.* Expression of leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains (LRIG) proteins in human ependymoma relates to tumor location, WHO grade, and patient age. *Clin Neuropathol*, 2009, **28**(1): 21-27
- [9] Mi S, Sandrock A, Miller R H. LINGO-1 and its role in CNS repair. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, **40**(10): 1971-1978
- [10] Bourikas D, Mir A, Walmsley A R. LINGO-1-mediated inhibition of oligodendrocyte differentiation does not require the leucine-rich repeats and is reversed by p75 (NTR) antagonists. *Mol Cell Neurosci*, 2010, **45**(4): 363-369
- [11] Nilsson J, Vallbo C, Guo D, *et al.* Cloning, characterization and expression of human LRIG1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, **284**(5): 1155-1161
- [12] Nishimura-Akiyoshi S, Niimi K, Nakashiba T, *et al.* Axonal netrin-Gs transneuronally determine lamina-specific subdendritic segments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(37): 14801-14806
- [13] Woo J, Kwon S K, Kim E, *et al.* The NGL family of leucine-rich repeat-containing synaptic adhesion molecules. *Mol Cell Neurosci*, 2009, **42**(1): 1-10
- [14] Kwon S K, Woo J, Kim S Y, *et al.* Trans-synaptic adhesions between netrin-G ligand-3 (NGL-3) and receptor tyrosine phosphatases LAR, protein-tyrosine phosphatase (PTP), and PTP *via* specific domains regulate excitatory synapse formation. *J Biol Chem*, 2010, **285**(18): 13966-13978
- [15] Linhoff M W, Laurén J, Cassidy R M, *et al.* An unbiased expression screen for synaptogenic proteins identifies the LRRTM protein family as synaptic organizers. *Neuron*, 2009, **61**(5): 734-749
- [16] Francks C, Maegawa S, Lauren J, *et al.* LRRTM1 on chromosome 2p12 is a maternally suppressed gene that is associated paternally with handedness and schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 2007, **12**(12): 1129-1139
- [17] Mah W, Ko J, Nam J, *et al.* Selected SALM (synaptic adhesion-like molecule) family proteins regulate synapse formation. *J Neurosci*, 2010, **30**(16): 5559-5568
- [18] Wang P Y, Seabold G K, Wenthold R J. Synaptic adhesion-like molecules (SALMs) promote neurite outgrowth. *Mol Cell Neurosci*, 2008, **39**(1): 83-94
- [19] Beaubien F, Cloutier J F. Differential expression of Slitrk family members in the mouse nervous system. *Dev Dyn*, 2009, **238**(12): 3285-3296
- [20] Proenca C C, Gao K P, Shmelkov S V, *et al.* Slitrks as emerging candidate genes involved in neuropsychiatric disorders. *Trends Neurosci*, 2011, **34**(3): 143-153
- [21] Wheldon L M, Haines B P, Rajappa R, *et al.* Critical role of FLRT1 phosphorylation in the interdependent regulation of FLRT1 function and FGF receptor signalling. *PLoS One*, 2010, **5**(4): e10264
- [22] Haines B P, Wheldon L M, Summerbell D, *et al.* Regulated expression of FLRT genes implies a functional role in the regulation of FGF signalling during mouse development. *Dev Biol*, 2006, **297**(1): 14-25
- [23] Chen Y, Aulia S, Li L, *et al.* AMIGO and friends: an emerging family of brain-enriched, neuronal growth modulating, type I transmembrane proteins with leucine-rich repeats (LRR) and cell adhesion molecule motifs. *Brain Res Rev*, 2006, **51**(2): 265-274
- [24] KujaPanula J, Kiiltomki M, Yamashiro T, *et al.* AMIGO, a transmembrane protein implicated in axon tract development, defines a novel protein family with leucine-rich repeats. *J Cell Biol*, 2003, **160**(6): 963-973
- [25] Ono T, Sekino-Suzuki N, Kikkawa, *et al.* Alivin 1, a novel neuronal

- activity-dependent gene, inhibits apoptosis and promotes survival of cerebellar granule neurons. *J Neurosci*, 2003, **23**(13): 5887–4896
- [26] Fukamachi K, Matsuoka Y, Ohno H, *et al.* Neuronal leucine-rich repeat protein-3 amplifies MAPK activation by epidermal growth factor through a carboxyl-terminal region containing endocytosis motifs. *J Biol Chem*, 2002, **277**(46): 43549–43552
- [27] Bando T, Sekine K, Kobayashi S, *et al.* Neuronal leucine-rich repeat protein 4 functions in hippocampus-dependent long-lasting memory. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(10): 4166–4175
- [28] Gomi F, Imaizumi K, Yoneda T, *et al.* Molecular cloning of a novel membrane glycoprotein, pal, specifically expressed in photoreceptor cells of the retina and containing leucine-rich repeat. *J Neurosci*, 2000, **20**(9): 3206–3213
- [29] 王洁如, 钱 骏, 董 利, 等. 富亮氨酸重复家族新成员 LRRC4 的克隆及在脑瘤中的表达分析. *生物化学和生物物理进展*, 2002, **29**(2): 233–239
- Wang J R, Qian J, Dong L, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2002, **29**(2): 233–239
- [30] Zhang Q H, Wang J R, Fan S Q, *et al.* Expression and functional characterization of LRRC4, a novel brain-specific member of the LRR superfamily. *FEBS Lett*, 2005, **579**(17): 3674–82
- [31] 武明花, 李小玲, 李桂源. 脑组织特异性基因 / 脑胶质瘤抑制基因 LRRC4 的功能研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2007, **34**(12): 1234–1239
- Wu M H, Li X L, Li G Y. *Prog Biochem Biophys*, 2007, **34**(12): 1234–1239
- [32] Zhang Z, Li D, Wu M, *et al.* Promoter hypermethylation-mediated inactivation of LRRC4 in gliomas. *BMC Mol Biol*, 2008, **9**: 99
- [33] Tang H, Liu X, Wang Z, *et al.* Interaction of hsa-miR-381 and glioma suppressor LRRC4 is involved in glioma growth. *Brain Res*, 2011, **1390**: 21–32

Progress of LRR Transmembrane Protein Function in Nervous System*

XU Gang^{1,2}), WU Ming-Hua^{1,3)**}, LI Gui-Yuan¹⁾

¹⁾Key Laboratory of Carcinogenesis and Cancer Invasion of Ministry of Education, Key Laboratory of Carcinogenesis of Ministry of Health, Cancer Research Institute of Central China University, Changsha 410078, China;

²⁾Medical College of University of South China, Hengyang 421001, China;

³⁾The Center for Skull Base Surgery and Neuro-oncology of Hunan Province, Changsha 410078, China)

Abstract Leucine-rich repeat (LRR) is a common protein domain. LRR domain-containing proteins are present in a large number of cells and tissues in prokaryotes and eukaryotes. The diverse functions of LRR proteins due to their specific locations and the different proteins interacted with them. Many LRR proteins are expressed specially in nerve tissue, and most of the proteins overexpressed in nerve tissue belong to transmembrane protein. As cellular adhesive molecules or ligand receptor proteins, they are involved in a variety of neural physiological activities such as synapse formation, neurite growth, neurotransmitter trafficking and release. The abnormal expression of LRR proteins results in the neurological and psychiatric disorders.

Key words leucine-rich repeat, transmembrane protein, nervous system, structure, function

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00291

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81171932) and Hunan Natural Science Foundation for Distinguished Young Scholar (11JJ1013).

**Corresponding author.

Tel: 86-731-82355401, E-mail: wuminghua554@yahoo.com.cn

Received: June 27, 2011 Accepted: September 30, 2011