

Semaphorins家族在肺发育与肺疾病中作用的研究进展

罗颖婉¹ 楼浙伟¹ 吴泓蔚¹ 吴雅君¹ 王勤泉¹ 黄智慧^{2*}

(¹温州医学院第一临床学院, 温州 325035; ²温州医学院基础医学院, 温州 325035)

摘要 Semaphorins家族是一类经典的神经元轴突导向排斥性因子。最近大量研究表明, 该家族除了在神经系统内发挥作用外, 在肺发育与肺疾病中也起着重要作用。Semaphorins家族可通过调节肺泡上皮细胞、肺内皮细胞的增殖、黏附、迁移和凋亡, 促进或抑制肺与血管的正常发育和病理过程。该文将对现阶段Semaphorins家族对肺发育过程中肺分支形成、血管形成和肺相关疾病作用的最新研究进展进行综述。

关键词 Semaphorins; 肺形成; 血管生成; 肺部疾病

Semaphorins(Sema)是一类较早在中枢神经系统中发现的导向因子, 对神经元轴突导向起排斥作用。该家族也调节神经元迁移、神经元极性、增殖和分化、树突棘的密度及其成熟、轴突修剪和突触形成等。此外, Semaphorins及其下游信号分子能够调节成熟海马突触和神经元的兴奋性, 这些蛋白和许多发育障碍、精神疾病和神经退行性疾病有关^[1]。除了在神经系统发挥作用外, Semaphorins家族在肺、心血管发育及肺疾病等方面也起着关键作用。Semaphorins受体Neuropilins和Plexins家族表达于多种肺组织细胞, 如肺血管内皮细胞、肺上皮细胞、肺肿瘤细胞等。Semaphorins通过其受体参与调控发育过程中肺及血管的形成, 并在某些肺疾病(如肺肿瘤)中也发挥着重要作用。本文主要就Semaphorins在正常肺、血管形成及肺相关疾病(肺炎症、肺纤维化、肺癌)中作用的最新研究进展进行综述。

1 Semaphorins和受体

1.1 Semaphorins介绍

Semaphorins家族是一类分泌型跨膜蛋白, 是较早发现的一类轴突导向排斥性因子^[2]。根据其结构特征, Semaphorins可分为8个亚族, Sema1-7亚族和SemaV, 共20多个成员。其中, Sema1A-B、Sema2A-B和Sema5C主要表达于无脊椎动物, 而Sema3-7亚族(包括Sema3A-G、Sema4A-G、Sema5A-B、Sema6A-D、Sema7A)表达于脊椎动物, SemaV-A和SemaV-B表达于病毒^[3-5]。

所有Semaphorins家族成员都有一个约500氨基酸残基的“Sema”保守结构域, 该结构由七个 β 螺旋折叠而成。Plexins、酪氨酸激酶受体Met和Ron也有类似的“Sema”结构^[3-4]。Semaphorins分子拥有Plexin-Semaphorin整合蛋白结构域(Plexin, Semaphorin and integrin, PSI)、免疫球蛋白样结构域(Ig)或者血小板凝血酶敏感蛋白重复结构。Semaphorins家族成员的主要区别在于C末端。Sema3亚族为分泌蛋白, Sema4-6亚族为跨膜蛋白, Sema7亚族通过甘油磷酸肌醇锚定于细胞膜^[4,6](图1)。

1.2 Semaphorins的受体

Semaphorins的受体比较复杂, 主要包括Neuropilins家族及Plexins家族等。本文主要介绍共受体Neuropilins家族及Plexins家族。

1.2.1 Neuropilins Neuropilins家族由Neuropilin 1(NP1, 也称NRP1)和Neuropilin 2(NP2, 也称NRP2)组成^[4]。NP1最初被鉴定为一种在神经元中发挥识别作用的细胞表面膜蛋白^[7]。虽然NP1和NP2在氨基酸水平只有44%的同源性, 但有相似的结构域: 两个补体结合域CUB(a1和a2)、两个凝集因子同源结构域FV/VIII(b1和b2)和一个甲丙氨酸A5结构域MAM(c), 其中b1和b2在Neuropilins二聚化过程中发挥重要作用^[4]。值得注意的是, Neuropilins也能与血

收稿日期: 2012-05-17 接受日期: 2012-08-16

温州医学院本科生创新项目(No.wyx201101009)、浙江省教育厅基金(No.Y200906728)和浙江省自然科学基金(No.Y2110364, No.Y2110242)资助项目

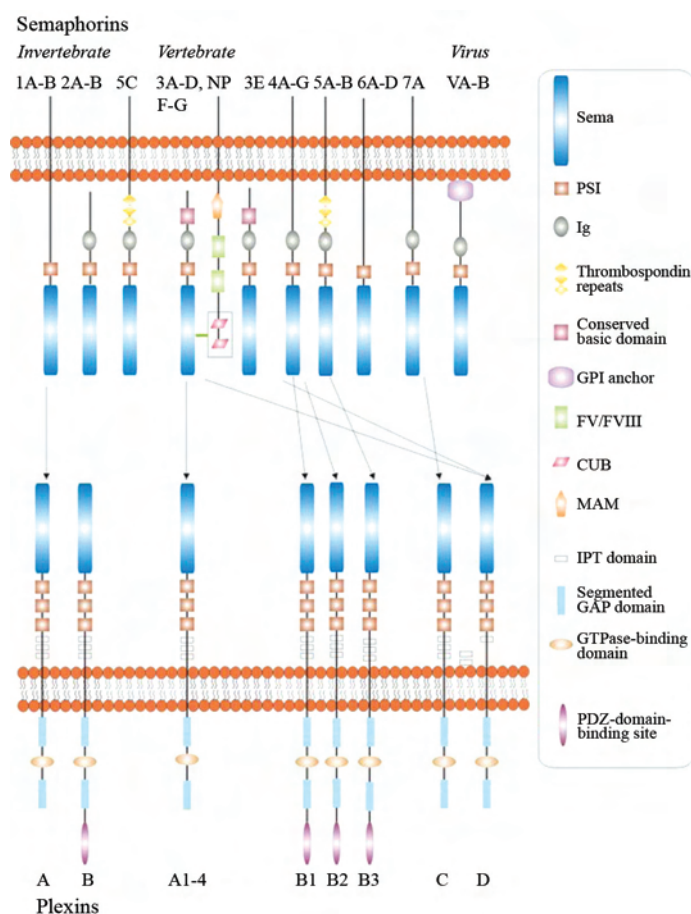
*通讯作者。Tel: 0577-86699117, E-mail: hzhzju021@163.com

管内皮生长因子(VEGF)结合^[6]。

1.2.2 Plexins Plexins是一类跨膜蛋白, 拥有膜外“Sema”结构域、PSI、IPT(IPT domain)和膜内GTP酶结合位点、GTP酶激活蛋白酶(GAP)片段, 有些还有PDZ结合片段(图1)。Plexins也能与酪氨酸激酶受体(RTK)、c-Met、ErbB2等膜蛋白结合^[6]。Plexins家族根据其同源性可分为四个亚家族: PlexinA、PlexinB、PlexinC

和PlexinD。其中, PlexinA亚家族包括PlexinA1-A4四个成员; PlexinB亚家族包括PlexinB1-B3三个成员; PlexinC和PlexinD亚家族各有一个成员^[3]。

Semaphorins结合并激活Plexins受体^[6]。通常, Sema4-7与Plexins直接结合, 而Sema3亚族(除Sema3E)需先和Neuropilins结合, 再与Plexins结合形成三联体(图1)。



Semaphorins及其受体Neuropilins、Plexins如上图所示。Semaphorins和Plexins分别有八个、四个亚族。Sema1-2亚族、Sema5C和PlexinA-B亚族主要表达于无脊椎动物; Sema3-7亚族表达于脊椎动物; SemaV亚族表达于病毒。Sema2-3亚族和SemaV亚族为分泌蛋白, 其余亚族为跨膜蛋白^[3-5]。PlexinA亚族包括PlexinA1-A4四个成员; PlexinB亚族包括PlexinB1-B3三个成员; PlexinC和PlexinD亚族各有一个成员。Semaphorins和Plexins都有膜外Sema结构域。Semaphorins还包括PSI、Ig样结构域和血小板凝血酶敏感蛋白重复结构(thrombospondin repeats)。Plexins还包括PSI、IPT(IPT domain)、GTP酶结合位点(GTPase-binding domain)和GAP片段(segmented GAP domain), 有些还有PDZ结合位点(PDZ-domain-binding site)^[3]。黑色箭头代表Semaphorins和Plexins的结合作用, 绿线代表Neuropilins作为共受体。FV/VIII代表凝集因子同源结构域, Conserved basic domain代表Sema保守结构域, CUB代表补体结合域, MAM代表甲丙氨酸A5结构域。

Semaphorins and their receptors (Neuropilins and Plexins) are delineated. There are eight subfamilies of Semaphorins and four subtypes of Plexins, including Plexin A1-A4, PlexinB1-B3, PlexinC and PlexinD subtypes. Sema1-2, Sema5C, Plexin-A and Plexin-B are found in invertebrates; Sema3-7 are found in vertebrates; SemaV are encoded by viruses. Sema2-3 and SemaV are secreted proteins, whereas the other Sema subfamilies are transmembrane proteins^[3-5]. Semaphorins and Plexins share Sema domains. Additionally, Semaphorins include PSI domains, Ig-like domains, thrombospondin domains. Other domains present in Plexins include PSI domains, IPT domains, a GTPase-binding domain and a segment GAP domain. Some Plexins also have PDZ-domain-binding sites^[3]. Black arrows indicate the interactions between Semaphorins and Plexins. Green lines indicate the co-receptors of Neuropilins. FV/VIII represents coagulation factor-like domains, conserved basic domain represents Sema conserved basic domain, CUB represents complement binding domain, MAM represents meprin A5 domain.

图1 Semaphorins及其受体(根据参考文献[3-4]修改)

Fig.1 Semaphorins and their receptors(modified from references [3-4])

1.3 Semaphorins的下游信号

Semaphorins下游信号通路较为复杂。在神经元导向过程中, Semaphorins通过Plexins受体提高胞浆cGMP水平, 激活胞膜CNG钙离子通道, 钙离子内流, 介导生长锥的排斥反应。另外, Semaphorins和Plexins结合后, 通过L1-CAM调节细胞内吞作用。LARG与PRG作用并阻断Rac-PAK信号通路, 从而激活Rho并促进肌动球蛋白的收缩聚合。而微管的不稳定性可能由Fes酪氨酸激酶的激活引起。激活的GAP抑制R-Ras, 限制整联蛋白的附着。同时, ERK/MAPK通路的激活促进了蛋白质合成^[3,6]。最新研究发现, Semaphorins和Plexins形成二聚物激活GAP, 其下游信号分子为Rap, 而非之前研究报道的Ras^[8], 为Plexins的信号机制提供了新的通路。

2 Semaphorins在肺发育中的作用

肺结构发育分为3个时期, 即胚胎期、胎儿期和出生后期。(1)胚胎期为胚胎第3~7周, 主要标志为主呼吸道的出现, 同时肺血管系统从第6主动脉弓分出, 在肺芽的间叶细胞中形成血管丛;(2)胎儿期, 又分为假腺期(第7~16周)、小管期(第16~25周)和终末囊泡期(第25周至足月)。在假腺期, 主呼吸道的发育

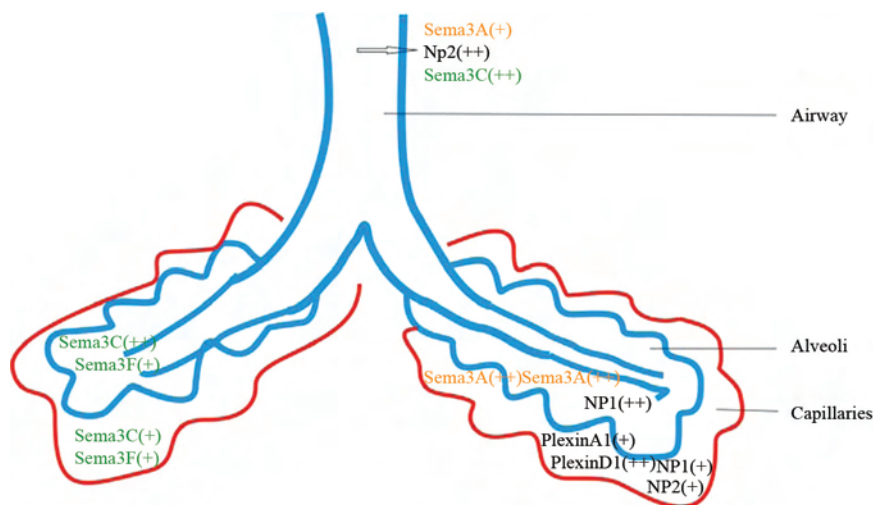
到末端支气管的形成时期, 肺动脉与呼吸道相伴生长。小管期的特点为腺泡出现、潜在气血屏障的上皮分化, 以及I型和II型上皮细胞分化。终末囊泡期的特点则为第二嵴引起的囊管再分化;(3)出生后期是肺泡发育和成熟的时期, 肺泡表面上皮细胞分化, 并形成很薄的血气屏障。胎儿出生时肺已基本发育成熟, 但进一步发育完善需到3岁。

2.1 Semaphorins在肺分支形成的作用

在肺发育过程中, Semaphorins和其他形态发生因子一起参与调控肺、血管的分支形成^[6]。Semaphorins及其受体在肺、血管的发育过程中有特定的时空分布(图2)。

2.1.1 Sema3A、Sema3C和Sema3F对肺分支形成的作用

Sema3A主要表达于终末肺泡上皮细胞及肺泡旁间质, 通过NP1/PlexinA1共受体来抑制胎儿晚期和新生儿早期的细胞存活、增殖、迁移以及诱导细胞凋亡, 以此来调控远端肺泡上皮的分化以及肺泡的发育和成熟^[9]。NP1主要表达于肺泡的上皮细胞和血管内皮细胞。Sema3A的表达量随着肺的发育逐渐减少, NP1表达量却随着发育逐渐增多。这些分子表达的变化也进一步加强了关于NP1的假说, 即NP1早期作为Semaphorin3A的受体而后期同时又作为



Semaphorins及其受体在肺发育过程中有特定的空间时间分布, 如图所示。在肺的发育过程中, Sema3C和Sema3F分别介导大气道、肺泡上皮细胞的形态改变和迁移, 从而促进肺的形态发生; 而Sema3A则反之。“++”和“+”分别代表高表达量和低表达量。橘黄色代表抑制作用, 绿色代表促进作用。

The expression patterns of Semaphorins and their receptors are regulated both spatially and temporally, as indicated in the Figure. In lung development, Sema3A (orange) opposes the effects of Sema3C and Sema3F (green), both of which mediate the morphological changes and migration of alveolar epithelial cells, thus promoting branching morphogenesis^[9-12]. “++” and “+” stand for high-level expression and low-level, respectively. Orange color represents inhibition, whereas green color represents promotion.

图2 Semaphorins对肺发育作用的模式图

Fig.2 Model of Semaphorins' functions in lung development

VEGF165的受体^[10]。NP1下游信号分子——CRMP-2的表达与NP1的表达相似^[9],这也提示了CRMP-2有可能参与了Sema3A在肺发育的调控过程。

Sema3C主要表达于叶支气管上皮细胞和终末肺泡上皮细胞,而Sema3F在所有上皮细胞中(尤其是II型肺泡上皮细胞的细胞膜、细胞质和间质)都有微量表达^[11-12]。NP2主要表达于叶支气管并与Sema3C分布相似,也有少量表达于肺间质中。Sema3C和Sema3F也参与了气道的发育过程,可能通过以下两种方式发挥作用,其一,通过NP2通路促进肺分支的形成;其二,与Sema3A竞争共受体NP1,削弱Sema3A的抑制作用。上述分子可能通过调节上皮细胞的迁移或改变支气管上皮细胞的形态来发挥作用^[11,13]。

2.1.2 其它分子对肺分支形成的作用 目前,研究其它Semaphorins对肺分支形成的作用甚少,只检测到Sema3G^[14]、Sema5A^[15]、Sema6A^[16]、Sema6B^[17]和Sema7A^[18]在肺中有高表达。此外,Sema6D在肺中也有微量的表达。因此,这些Semaphorins可能参与调节肺的发育,但具体机制尚未阐明^[19]。

2.2 Semaphorins对血管形成的作用

Soker等^[20]和Kawasaki等^[21-22]最早发现Sema/Np/Plexin系统在血管形成过程中起作用,并提出在内皮细胞上Neuropilins作为Semaphorins和VEGF-A的共受体参与血管的形成。

2.2.1 Sema3A、Sema3C和Sema3F对血管形成的作用 Sema3A、Sema3C与NP1/NP2、PlexinD1的结合亲和力大于PlexinA1^[23-24]。NP1的b1结构域是Sema3A和VEGF-A的共同结合点^[4,25],所以Sema3A可能拮抗VEGF-A引起的内皮细胞黏附和迁移作用^[23,26]。与Sema3A类似,Sema3F也通过抑制整联蛋白黏连,抑制血管重构(图3)。此外,Sema3F能够抑制碱性成纤维细胞生长因子的生成,后者与VEGF-A引导的血管再生作用相仿^[27]。同时,Sema3A破坏PP2A/VE钙黏蛋白(VE-cadherin)的平衡,从而提高血管通透性;Sema3F也能增加血管的通透性,但其具体机制不明。并且Sema3A和Sema3F都能抑制内皮细胞的增生和引起凋亡,最终起到抑制血管生成的作用^[28-29]。而Sema3C能激活整联蛋白,并使其磷酸化,同时促进VEGF-A的分泌,引起内皮细胞的存活、增殖、黏连和方向性的迁移,使血管形成。所以,Sema3C对血管的作用与VEGF-A相似,与Sema3A相反。Sema3C也表达于平滑肌细胞的前体^[30]。

2.2.2 Sema3E对血管形成的作用 Sema3E可不依赖Neuropilins,直接与受体PlexinD结合,抑制血管的形成^[31]。在胚胎发育的体节中,Sema3E作为抑制信号,抑制血管的生长和肌节间区域的分支过程^[25]。Plexins的胞内区被赋予调控R-Ras和RhoA的特性^[32]。在分子水平上,Sema3E激活PlexinD,抑制R-Ras的功能,促进Arf6的快速激活,引起内皮顶端细胞(tip cell)的丝状伪足回缩和整联蛋白的黏连结构裂解的作用,最终抑制内皮细胞的黏连^[33]。另一方面,Sema3E与PlexinD结合,抑制了VEGF介导的Delta-like 4(Dll4)-Notch信号途径通路,使内皮顶端细胞和柄细胞(stalk cell)死亡^[34](图3)。

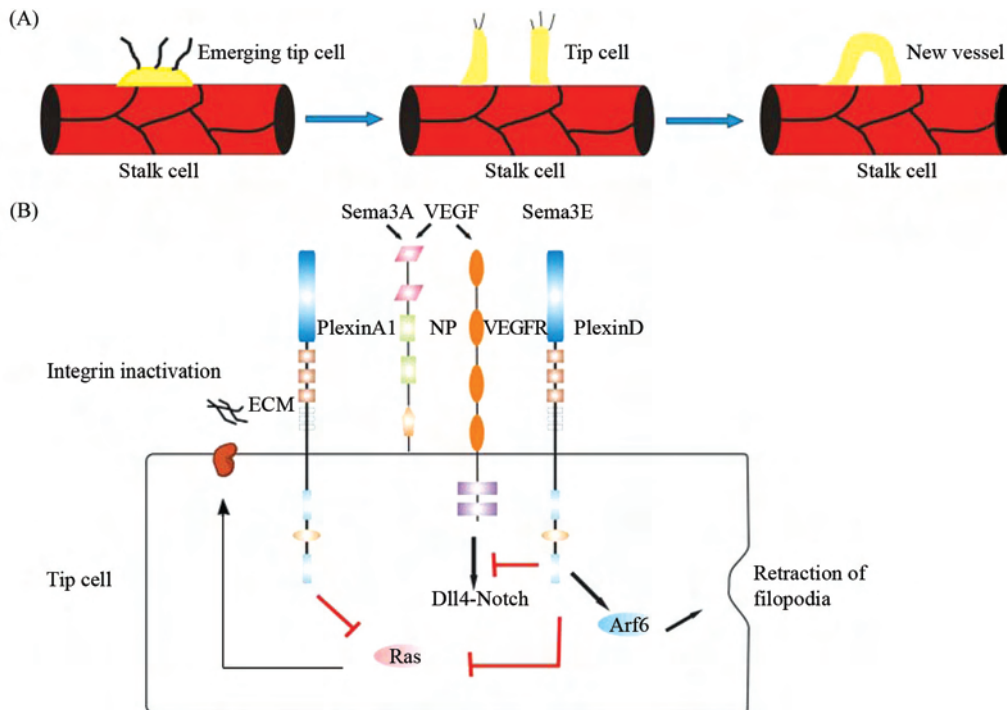
2.2.3 Sema4D对血管形成的作用 Sema4D受体PlexinB1高表达于内皮细胞,PlexinB1能促进PYK2介导的Src激酶胞内酪氨酸激酶级联反应,激活磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)-Akt途径,最终促进内皮细胞的迁移和血管的形成,而此信号通路依赖于PlexinB1激活Rho的活性^[36-37]。

2.2.4 其它Sema对血管形成的作用 在Furin-like pro-protein转化酶的作用下,Sema3B片段——Sema3B-m抑制血管生长^[38]。Sema5A通过激活Akt促进内皮细胞的增殖和抑制凋亡,同时通过激活甲硫氨酸和降解细胞外基质,促进内皮细胞迁移^[39]。Sema4A能抑制内皮细胞的迁移和血管的形成^[24],Sema3G、Sema4C和Sema5A也有潜在的调节血管的作用^[40-42]。

3 Semaphorins和肺疾病

3.1 肺部炎症

Sema4A和Sema4D是最先在免疫系统发现的Semaphorins家族成员,所以被称为“免疫性Semaphorins”^[43]。不同于在神经系统中的受体,Sema4D(也称CD100)和Sema4A在免疫反应中的受体分别为CD72和Tim-2。Sema4D在T细胞上表达,并与B细胞、树突状细胞和巨噬细胞上的受体CD72结合,促进CD72上ITIM的去磷酸化,使具有抑制信号传导的SHP-1与CD72分离,最终引起B细胞、树突状细胞和巨噬细胞的激活;TCR激活之后,树突状细胞和B细胞上的Sema4A与T细胞上的受体Tim-2结合,并使Tim-2的酪氨酸磷酸化,最终引起T细胞的激活。除此之外,其它Semaphorins家族成员(包括病毒上的Semaphorins)也可能在肺部炎症的免疫反应中发挥



A: 血管的新生: VEGF等信号分子启动血管的新生。内皮顶端细胞(黄色)延伸伪足并且指引新生芽的形成,而柄细胞(红色)仍然保持组织灌注。之后,顶端细胞连接形成新的血管^[35]; B: Sema3A和Sema3E抑制血管形成的机制。一方面, Sema3A和VEGF竞争NP^[23,26], 另一方面, Sema3A/NP1/PlexinA1共受体抑制Ras, 使整联蛋白和细胞外基质分离。Sema3E/PlexinD也抑制Ras和激活Arf6, 引起伪足的回缩^[33]。同时, Sema3E/PlexinD还抑制Dll4-Notch通路^[34]。

A: angiogenic sprouting and blood vessel growth: signals, such as VEGF initiate ECs' sprouting. Tip cells(yellow) extend filopodia and guide new sprouts while stalk cells(red) remain tissue perfusion. Later, newly-extended tip cells are bridged and converted into fresh vessels^[35]; B: anti-angiogenic signaling by Sema3A/Sema3E in tip cells: Sema3A, on one hand, competes against VEGF for NP^[23,26]. On the other hand, Sema3A binds to PlexinA1, thus suppressing Ras, which leads to the inactivation of integrin. The activation of Plexin D by Sema3E also inhibits the activity of Ras. Arf6, activated by PlexinD causes the retraction of filopodia^[33]. Sema3E/PlexinD also inhibits the Dll4-Notch pathway in tip cells^[34].

图3 Semaphorins对血管的作用
Fig.3 Semaphorins in angiogenesis

重要作用^[44]。

Sema3A与单核细胞来源的巨噬细胞的表达受体相结合,同时配合抗Fas CH11抗体,诱导细胞凋亡^[45]。Sema6D与PlexinA1-TREM2-DAP12受体结合形成复合物,刺激树突状细胞,介导炎症反应。Sema7A表达于活化的T细胞表面,与 $\alpha 1\beta 1$ 整联蛋白相互作用,对激活巨噬细胞起了决定性的作用^[44]。

3.2 肺纤维化

肺纤维化是一种表现形式多样、致死率高、但治疗方案少的病理过程^[40],常见于肺间质病,包括特发性肺纤维化、硬皮病、放射诱导的肺纤维化和博来霉素肺等^[46]。Sema7A是一种糖基磷脂酰肌醇(glycosyl phosphatidyl inositol, GPI)锚定的膜蛋白,它在组织重构中也发挥着重要作用。一方面, Sema7A促进TGF- $\beta 1$ 和博来霉素(bleomycin)等诱导的成肌纤维细胞的纤维化增生和气道的重构。TGF- $\beta 1$ 和博

来霉素通过非Smad3依赖的途径激活Sema7A,通过Sema7A依赖的途径激活Sema7A受体、基质蛋白、纤维生长因子2等。同时, Sema7A也参与调节TGF- $\beta 1$ 和博来霉素诱导的PI3K/PKB/AKT的下游通路^[47-49];另一方面,在特发性纤维化病人的外周血中也检测发现淋巴细胞和单核细胞上有Sema7A的表达^[50]。Sema7A促进单核细胞分化为M2巨噬细胞,并激活M2巨噬细胞,最终诱导纤维化的发生^[49,51]。

3.3 肺癌

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,目前已成为全球癌症相关疾病的主要死因^[5]。多种肺癌细胞表达Neuropilins和Plexins受体,提示Semaphorins可能通过其受体介导肿瘤的发生^[52]。在肺癌中,高表达的NP1与低存活率相关联, NP1和NP2的共同表达引起血管再生,与预后差具有相关性^[5,53]。在肺血管内皮细胞中,自分泌的VEGF对有NP表达的癌细胞起了

类似于存活因子的作用, NP和VEGFR-2激活PI3K^[5]。与轻度支气管增生和鳞状化生相比, 从发育不良至微浸润癌的早期恶性损伤均可观察到NP水平的进行性上调^[54]。最新研究表明, Plexins也有参与癌症的发展过程。但当缺失CRMP-1(Semaphorins下游信号分子)时, 将呈现更严重的肺癌形式。另一个重要分子——c-Met(其配件HGF和NP结合)也参与了细胞迁移和肿瘤发生, 与PlexinB共同促进浸润性生长^[5]。

3.3.1 Semaphorins对肺癌的一般作用 癌症的进展(侵袭和转移)不仅包括癌细胞的遗传改变, 还

包括癌细胞与其周边非肿瘤细胞的信息交流(cross talk)。一方面, Semaphorins作为多效信号分子, 对癌细胞行为有调节作用, 包括调控细胞的存活、增殖、凋亡和黏附、迁移, 肿瘤微环境或癌细胞释放的Semaphorins也能够建立起自分泌调控循环; 另一方面, Semaphorins能够调节肿瘤微环境, 即肿瘤间质, 包括造血细胞、肿瘤相关性巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)、淋巴细胞、树突细胞、血小板、内皮细胞和神经纤维。如血管淋巴道的发生常合并免疫炎症反应, 能够促进癌细胞的存活、迁移和侵袭转移^[2](表1)。

表1 Semaphorins在肺癌中的作用及机制
Table 1 The effects and mechanisms of Semaphorins in lung cancer

对血管的作用 The functions in angiogenesis	信息素 Semaphorins	肿瘤中的机制 The mechanisms in lung cancer	参考文献 References
Angiogenesis	Sema3C	Competes VEGF for the bind to Neuropilin receptors with higher metastatic capability	[6,55]
	Sema3D	?	
	Sema3E	Induces extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation of EC, and promotes cell migration, invasive growth, and lung metastasis	[6]
	Sema4C	?	
	Sema4D	?	
	Seam5A	?(Related to non-small lung cancer)	[56]
Anti-angiogenesis	Sema3A	Inhibits vascular density and branching vessel function and increases tumor hypoxia and necrosis, thus suppressing tumor growth, but without promoting metastasis	[6,57-58]
	Sema3B	Has anti-proliferative effects and induces apoptosis in tumor cells	[6,38,55]
	Sema3F	(1) Inhibites $\alpha 5 \beta 3$ integrin activation; (2) Inhibites ILK-ERK1/2 ,AKT-STAT3 pathway, and HIF-1A and VEGF; (3) Extensively expresses CRMP5 (in high-grade lung neuroendocrine carcinoma); (4) Functiones as an anti-angiogenic factor, thus repelling EC proliferation/survival	[6,55,59,60]
	Sema4B	Interacts with CLCP1, which mediates proteasome degradation, thus inhibiting metastasis of lung cancer	[61]
	Sema6A	?	

3.3.2 Sema3B和Sema3F对肺癌的作用 事实上, 有一些Semaphorins家族成员影响肺癌的形成与进展, 而目前的研究主要集中在Sema3B和Sema3F。

Sema3B最初被认为是一种具有特征性的肿瘤抑制剂。编码该物质的等位基因片段的丢失和肿瘤生长促进因子的甲基化作用, 使该基因功能丧失, 这已在肺小细胞癌细胞中发现^[3]。过度表达Sema3B可使肺癌细胞生长受抑制, 它通过肿瘤抑制基因(*TSG*)编码的胰岛素样生长因子结合蛋白-6(IGFBP-6)的

诱导作用, 抑制PI3K信号通路从而介导细胞凋亡。最新研究表明, Sema3B对初始肿瘤生长的抑制作用可能与抑制肿瘤细胞的转移性有关, 因为Sema3B会引起IL-8表达的增加和肿瘤相关巨噬细胞的补充^[6]。

Sema3F在正常肺上皮细胞中也有表达, 在一些高分化肿瘤中高表达, 而在肺及其他部位的低分化肿瘤中的表达却有所下调^[3]。在H157肺癌细胞中, Sema3F抑制Akt-STAT3等多条信号通路。Sema3F可使活化的 $\alpha \nu \beta 3$ 整联蛋白丢失和细胞外基质成分的

黏附。此外, Sema3F还使低氧诱导因子(HIF1 α)表达丢失和VEGF-A表达减少, 从而抑制低氧诱导的血管重构^[4]。

4 讨论

神经因子最早发现于它对生长锥的导向作用。根据血管神经的平行结构特点, 推测Semaphorins分子在循环系统中有类似于在神经系统的作用。实验证明, 胚胎Semaphorins在血液循环系统和神经系统发育中的作用确实有惊人的相似之处^[35,62-63]。那么在肺中, 血管、支气管和肺泡的结构也是平行或缠绕的, 我们猜想时空分布上, Semaphorins及其受体对肺的作用也可以类比Semaphorins对血管、神经的作用。这可能为后续关于Semaphorins在肺发育和肺相关的病理研究提供潜在的研究方向。而目前的发现仅局限于Semaphorins和其受体的表达部位, 而其具体作用和下游作用机制尚未研究。

如上文所述, Sema3A、NP1、CRMP-2参与了正常肺的发育过程, 但PlexinA1和CRMP-2的作用效果不明。同时我们注意到, Sema3A抑制肺的形成, 而Sema3C、Sema3F则反之, 其具体机制尚未明了^[13,64]。我们猜测Sema3C和Sema3F可能直接结合NP2从而促进肺分支形成, 或者Sema3C、Sema3F与Sema3A共同竞争结合NP1, 使Sema3A的抑制作用相对减少而起促进作用。此猜想尚需进一步的实验验证。

关于血管, 之前研究报道了Sema3A和VEGF-A竞争它们的共同受体NP1。一方面, 过去一度认为NP1不是通过直接作用于VEGF-A, 而是通过VEGFR来介导信号通路, 最近却有报道显示, NP与通过非VEGFR上的酪氨酸激酶结合后直接激活VEGF^[65]; 另一方面, 晶体结构显示, Sema3A和VEGF-A结合NP1的不同胞外区域^[3]。这个问题也一直是Semaphorins在血管发生、发展过程中作用的矛盾所在。所以Sema3A、VEGF-A和NP1的相互联系有待进一步考证。

目前, 还缺乏关于Plexins GAP结构域的具体下游信号活动的发现, 所以大量的研究集中在其信号机制领域。尽管调节激酶和Rho家族的机制已被揭示, 但未能提供集中在Plexins的信号通路。有报道称, Plexins自身有向R-Ras的GAP活动^[8]; 最近报道称, Semaphorins和Plexins聚合后转向Rap^[3,8]。这些潜在的信号通路从分子生物学角度为Semaphorins的多种

生物功能提供了依据。

为什么受体系统如此复杂? 普遍认为, Neuropilins和Plexins为Semaphorins的受体。但Sema4D和Sema4A却能分别与CD72和Tim-2结合, 发挥免疫作用, 而且这两种分子与Neuropilins和Plexins无结构联系^[43]。尽管目前还不清楚其它Semaphorins是否也有不同的受体, 但是Sema4D和Sema4A的受体也无法很好地解释受体系统, 因为Sema4D既可以与CD72结合, 也可以与Plexin-B1结合, 与Sema4A类似。所以, 我们猜想Sema4D和Sema4A可能在免疫反应中有其它新的功能, 这或许能使有限的基因资源发挥多样性的基因作用。

大量文献报道了Semaphorins及受体Neuropilins、Plexins涉及肺癌的发生、发展。一些Semaphorins(如Sema3B、Sema3F)可作为肿瘤的抑制物和血管生成抑制物, 所以它们也有望成为抗肿瘤的药物。而另一些Semaphorins(如Sema4D)作为肿瘤促生物或促血管生成物, 也为治疗肺癌提供了潜在的靶向。同时也可以从下游机制入手, 比如采用使NP二聚化的药物或者NP的抗体, 阻止Sema和NP的结合。目前, 还没有针对受体Plexins的药物, 这也不失为一新兴方向。然而, 我们对于Semaphorins的信号传导还存在许多疑问, 如为什么部分亚族作为肿瘤促生物而部分亚族则反之? 另外, 关于直接受体Plexins和NP/Plexins复合受体在下游中具体发挥作用的共同点与差别也仍需深入探究。

参考文献 (References)

- 1 Pasterkamp RJ, Giger RJ. Semaphorin function in neural plasticity and disease. *Curr Opin Neurobiol* 2009; 19(3): 263-74.
- 2 Capparruccia L, Tamagnone L. Semaphorin signaling in cancer cells and in cells of the tumor microenvironment—two sides of a coin. *J Cell Sci* 2009; 122(Pt 11): 1723-36.
- 3 Kruger RP, Aurandt J, Guan KL. Semaphorins command cells to move. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(10): 789-800.
- 4 Neufeld G, Kessler O. The semaphorins: Versatile regulators of tumour progression and tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2008; 8(8): 632-45.
- 5 Potiron VA, Roche J, Drabkin HA. Semaphorins and their receptors in lung cancer. *Cancer Lett* 2009; 273(1): 1-14.
- 6 Nasarre P, Potiron V, Drabkin H, Roche J. Guidance molecules in lung cancer. *Cell Adh Migr* 2010; 4(1): 130-45.
- 7 Takagi S, Hirata T, Agata K, Mochii M, Eguchi G, Fujisawa H. The A5 antigen, a candidate for the neuronal recognition molecule, has homologies to complement components and coagulation factors. *Neuron* 1991; 7(2): 295-307.
- 8 Wang Y, He H, Srivastava N, Vikarunnessa S, Chen YB, Jiang J,

- et al.* Plexins are GTPase-activating proteins for Rap and are activated by induced dimerization. *Sci Signal* 2012; 5(207): ra6.
- 9 Becker PM, Tran TS, Delannoy MJ, He C, Shannon JM, McGrath-Morrow S. Semaphorin 3A contributes to distal pulmonary epithelial cell differentiation and lung morphogenesis. *PLoS One* 2011; 6(11): e27449.
- 10 Miao HQ, Soker S, Feiner L, Alonso JL, Raper JA, Klagsbrun M. Neuropilin-1 mediates collapsin-1/semaphorin III inhibition of endothelial cell motility: Functional competition of collapsin-1 and vascular endothelial growth factor-165. *J Cell Biol* 1999; 146(1): 233-42.
- 11 Goshima Y, Ito T, Sasaki Y, Nakamura F. Semaphorins as signals for cell repulsion and invasion. *J Clin Invest* 2002; 109(8): 993-8.
- 12 Ito T, Kagoshima M, Sasaki Y, Li C, Udaka N, Kitsukawa T, *et al.* Repulsive axon guidance molecule Sema3A inhibits branching morphogenesis of fetal mouse lung. *Mech Dev* 2000; 97(1/2): 35-45.
- 13 Kagoshima M, Ito T. Diverse gene expression and function of semaphorins in developing lung: Positive and negative regulatory roles of semaphorins in lung branching morphogenesis. *Genes Cells* 2001; 6(6): 559-71.
- 14 Taniguchi M, Masuda T, Fukaya M, Kataoka H, Mishina M, Yaginuma H, *et al.* Identification and characterization of a novel member of murine semaphorin family. *Genes Cells* 2005; 10(8): 785-92.
- 15 Adams RH, Betz H, Puschel AW. A novel class of murine semaphorins with homology to thrombospondin is differentially expressed during early embryogenesis. *Mech Dev* 1996; 57(1): 33-45.
- 16 Zhou L, White FA, Lentz SI, Wright DE, Fisher DA, Snider WD. Cloning and expression of a novel murine semaphorin with structural similarity to insect semaphorin I. *Mol Cell Neurosci* 1997; 9(1): 26-41.
- 17 Eckhardt F, Behar O, Calautti E, Yonezawa K, Nishimoto I, Fishman MC. A novel transmembrane semaphorin can bind c-src. *Mol Cell Neurosci* 1997; 9(5/6): 409-19.
- 18 Xu X, Ng S, Wu ZL, Nguyen D, Homburger S, Seidel-Dugan C, *et al.* Human semaphorin K1 is glycosylphosphatidylinositol-linked and defines a new subfamily of viral-related semaphorins. *J Biol Chem* 1998; 273(35): 22428-34.
- 19 Qu X, Wei H, Zhai Y, Que H, Chen Q, Tang F, *et al.* Identification, characterization, and functional study of the two novel human members of the semaphorin gene family. *J Biol Chem* 2002; 277(38): 35574-85.
- 20 Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G, Klagsbrun M. Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. *Cell* 1998; 92(6): 735-45.
- 21 Kawasaki T, Kitsukawa T, Bekku Y, Matsuda Y, Sanbo M, Yagi T, *et al.* A requirement for neuropilin-1 in embryonic vessel formation. *Development* 1999; 126(21): 4895-902.
- 22 Kawasaki T, Bekku Y, Suto F, Kitsukawa T, Taniguchi M, Nagatsu I, *et al.* Requirement of neuropilin 1-mediated Sema3A signals in patterning of the sympathetic nervous system. *Development* 2002; 129(3): 671-80.
- 23 Serini G, Maione F, Giraudo E, Bussolino F. Semaphorins and tumor angiogenesis. *Angiogenesis* 2009; 12(2): 187-93.
- 24 Serini G, Napione L, Arese M, Bussolino F. Besides adhesion: New perspectives of integrin functions in angiogenesis. *Cardiovasc Res* 2008; 78(2): 213-22.
- 25 Cheng L, Jia H, Lohr M, Bagherzadeh A, Holmes DI, Selwood D, *et al.* Anti-chemorepulsive effects of vascular endothelial growth factor and placental growth factor-2 in dorsal root ganglion neurons are mediated via neuropilin-1 and cyclooxygenase-derived prostanoid production. *J Biol Chem* 2004; 279(29): 30654-61.
- 26 Serini G, Valdembri D, Zanivan S, Morterra G, Burkhardt C, Caccavari F, *et al.* Class 3 semaphorins control vascular morphogenesis by inhibiting integrin function. *Nature* 2003; 424(6947): 391-7.
- 27 Kessler O, Shraga-Heled N, Lange T, Gutmann-Raviv N, Sabo E, Baruch L, *et al.* Semaphorin-3F is an inhibitor of tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2004; 64(3): 1008-15.
- 28 Patel-Hett S, D'Amore PA. Signal transduction in vasculogenesis and developmental angiogenesis. *Int J Dev Biol* 2011; 55(4/5): 353-63.
- 29 Le Guelte A, Galan-Moya EM, Dwyer J, Treps L, Kettler G, Hebda JK, *et al.* Semaphorin 3A elevates endothelial cell permeability through PP2A inactivation. *J Cell Sci* 2012; doi: 10.1242/jcs.108282.
- 30 Banu N, Teichman J, Dunlap-Brown M, Villegas G, Tufro A. Semaphorin 3C regulates endothelial cell function by increasing integrin activity. *FASEB J* 2006; 20(12): 2150-2.
- 31 Gu C, Yoshida Y, Livet J, Reimert DV, Mann F, Merte J, *et al.* Semaphorin 3E and plexin-D1 control vascular pattern independently of neuropilins. *Science* 2005; 307(5707): 265-8.
- 32 Casazza A, Finisguerra V, Capparuccia L, Camperi A, Swiercz JM, Rizzolio S, *et al.* Sema3E-Plexin D1 signaling drives human cancer cell invasiveness and metastatic spreading in mice. *J Clin Invest* 2010; 120(8): 2684-98.
- 33 Sakurai A, Gavard J, Annas-Linhares Y, Basile JR, Amornphimoltham P, Palmby TR, *et al.* Semaphorin 3E initiates antiangiogenic signaling through plexin D1 by regulating Arf6 and R-Ras. *Mol Cell Biol* 2010; 30(12): 3086-98.
- 34 Kim J, Oh WJ, Gaiano N, Yoshida Y, Gu C. Semaphorin 3E-Plexin-D1 signaling regulates VEGF function in developmental angiogenesis via a feedback mechanism. *Genes Dev* 2011; 25(13): 1399-411.
- 35 Carmeliet P, Tessier-Lavigne M. Common mechanisms of nerve and blood vessel wiring. *Nature* 2005; 436(7048): 193-200.
- 36 Tamagnone L, Artigiani S, Chen H, He Z, Ming GL, Song H, *et al.* Plexins are a large family of receptors for transmembrane, secreted, and GPI-anchored semaphorins in vertebrates. *Cell* 1999; 99(1): 71-80.
- 37 Basile JR, Afkhami T, Gutkind JS. Semaphorin 4D/plexin-B1 induces endothelial cell migration through the activation of PYK2, Src, and the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Mol Cell Biol* 2005; 25(16): 6889-98.
- 38 Varshavsky A, Kessler O, Abramovitch S, Kigel B, Zaffryar S, Akiri G, *et al.* Semaphorin-3B is an angiogenesis inhibitor that is inactivated by furin-like pro-protein convertases. *Cancer Res* 2008; 68(17): 6922-31.
- 39 Sadanandam A, Rosenbaugh EG, Singh S, Varney M, Singh RK. Semaphorin 5A promotes angiogenesis by increasing endothelial cell proliferation, migration, and decreasing apoptosis. *Microvasc*

- Res 2010; 79(1): 1-9.
- 40 Kutschera S, Weber H, Weick A, De Smet F, Genove G, Take-moto M, *et al.* Differential endothelial transcriptomics identifies semaphorin 3G as a vascular class 3 semaphorin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31(1): 151-9.
 - 41 Zielonka M, Xia J, Friedel RH, Offermanns S, Wozfeld T. A systematic expression analysis implicates Plexin-B2 and its ligand Sema4C in the regulation of the vascular and endocrine system. *Exp Cell Res* 2010; 316(15): 2477-86.
 - 42 Artigiani S, Conrotto P, Fazzari P, Gilestro GF, Barberis D, Giordano S, *et al.* Plexin-B3 is a functional receptor for semaphorin 5A. *EMBO Rep* 2004; 5(7): 710-4.
 - 43 Smith EP, Shanks K, Lipsky MM, DeTolla LJ, Keegan AD, Chapoval SP. Expression of neuroimmune semaphorins 4A and 4D and their receptors in the lung is enhanced by allergen and vascular endothelial growth factor. *BMC Immunol* 2011; 12: 30.
 - 44 Kumanogoh A, Kikutani H. Immune semaphorins: A new area of semaphorin research. *J Cell Sci* 2003; 116(Pt 17): 3463-70.
 - 45 Ji JD, Park-Min KH, Ivashkiv LB. Expression and function of semaphorin 3A and its receptors in human monocyte-derived macrophages. *Hum Immunol* 2009; 70(4): 211-7.
 - 46 Wynn TA. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis. *J Exp Med* 2011; 208(7): 1339-50.
 - 47 Kang HR, Lee CG, Homer RJ, Elias JA. Semaphorin 7A plays a critical role in TGF-beta1-induced pulmonary fibrosis. *J Exp Med* 2007; 204(5): 1083-93.
 - 48 Peng X, Mathai SK, Murray LA, Russell T, Reilkoff R, Chen Q, *et al.* Local apoptosis promotes collagen production by monocyte-derived cells in transforming growth factor beta1-induced lung fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2011; 4(1): 12.
 - 49 Herzog E, Chen Q, Peng X, Lee C, Homer RJ, Elias JA. Semaphorin 7a promotes M2 differentiation and fibrocyte accumulation in TGF-beta1 induced pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181.
 - 50 Gan Y, Reilkoff R, Peng X, Russell T, Chen Q, Mathai SK, *et al.* Role of semaphorin 7a signaling in transforming growth factor beta1-induced lung fibrosis and scleroderma-related interstitial lung disease. *Arthritis Rheum* 2011; 63(8): 2484-94.
 - 51 Hardie WD, Glasser SW, Hagood JS. Emerging concepts in the pathogenesis of lung fibrosis. *Am J Pathol* 2009; 175(1): 3-16.
 - 52 Neufeld G, Shrager-Heled N, Lange T, Guttmann-Raviv N, Herzog Y, Kessler O. Semaphorins in cancer. *Front Biosci* 2005; 10: 751-60.
 - 53 Kawakami T, Tokunaga T, Hatanaka H, Kijima H, Yamazaki H, Abe Y, *et al.* Neuropilin 1 and neuropilin 2 co-expression is significantly correlated with increased vascularity and poor prognosis in nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2002; 95(10): 2196-201.
 - 54 Lantuejoul S, Constantin B, Drabkin H, Brambilla C, Roche J, Brambilla E. Expression of VEGF, semaphorin SEMA3F, and their common receptors neuropilins NP1 and NP2 in preinvasive bronchial lesions, lung tumours, and cell lines. *J Pathol* 2003; 200(3): 336-47.
 - 55 Gaur P, Bielenberg DR, Samuel S, Bose D, Zhou Y, Gray MJ, *et al.* Role of class 3 semaphorins and their receptors in tumor growth and angiogenesis. *Clin Cancer Res* 2009; 15(22): 6763-70.
 - 56 Lu TP, Tsai MH, Lee JM, Hsu CP, Chen PC, Lin CW, *et al.* Identification of a novel biomarker, SEMA5A, for non-small cell lung carcinoma in nonsmoking women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(10): 2590-7.
 - 57 Maione F, Molla F, Meda C, Latini R, Zentilin L, Giacca M, *et al.* Semaphorin 3A is an endogenous angiogenesis inhibitor that blocks tumor growth and normalizes tumor vasculature in transgenic mouse models. *J Clin Invest* 2009; 119(11): 3356-72.
 - 58 Casazza A, Fu X, Johansson I, Capparuccia L, Andersson F, Giustacchini A, *et al.* Systemic and targeted delivery of semaphorin 3A inhibits tumor angiogenesis and progression in mouse tumor models. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31(4): 741-9.
 - 59 Potiron VA, Sharma G, Nasarre P, Clarhaut JA, Augustin HG, Gemmill RM, *et al.* Semaphorin SEMA3F affects multiple signaling pathways in lung cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67(18): 8708-15.
 - 60 Meyronet D, Massoma P, Thivolet F, Chalabreysse L, Rogemond V, Schlama A, *et al.* Extensive expression of collapsin response mediator protein 5 (CRMP5) is a specific marker of high-grade lung neuroendocrine carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2008; 32(11): 1699-708.
 - 61 Nagai H, Sugito N, Matsubara H, Tatematsu Y, Hida T, Sekido Y, *et al.* CLCP1 interacts with semaphorin 4B and regulates motility of lung cancer cells. *Oncogene* 2007; 26(27): 4025-31.
 - 62 Larrivee B, Freitas C, Suchting S, Brunet I, Eichmann A. Guidance of vascular development: Lessons from the nervous system. *Circ Res* 2009; 104(4): 428-41.
 - 63 Adams RH, Eichmann A. Axon guidance molecules in vascular patterning. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2(5): a001875.
 - 64 Takahashi T, Fournier A, Nakamura F, Wang LH, Murakami Y, Kalb RG, *et al.* Plexin-neuropilin-1 complexes form functional semaphorin-3A receptors. *Cell* 1999; 99(1): 59-69.
 - 65 Oinuma I, Ishikawa Y, Katoh H, Negishi M. The Semaphorin 4D receptor Plexin-B1 is a GTPase activating protein for R-Ras. *Science* 2004; 305(5685): 862-5.

Semaphorins in Lung Development and Pulmonary Diseases

Luo Yingwan¹, Lou Zhewei¹, Wu Hongwei¹, Wu Yajun¹, Wang Qinquan¹, Huang Zhihui^{2*}

(¹*Department of Clinic Medicine, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;* ²*Department of Basic Medicine, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China*)

Abstract Semaphorins are a large family of secreted and transmembrane signaling proteins that repel axons in the developing nervous system. Recent studies have shown that Semaphorins are involved in the development of lung and pulmonary diseases through regulating cell proliferation, adhesion, motility and apoptosis. This review focuses on the emerging roles of the Semaphorins in lung branching morphogenesis, angiogenesis and pulmonary diseases.

Key words Semaphorins; lung morphogenesis; angiogenesis; pulmonary diseases

Received: May 17, 2012 Accepted: August 16, 2012

This work was supported by the Undergraduate Innovation Project of Wenzhou Medical School (No.wyx201101009), the Science Foundation of Educational Committee of Zhejiang Province (No.Y200906728) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.Y2110364, No.Y2110242)

*Corresponding author. Tel: 86-577-86699117, E-mail: hzhzju021@163.com