

神经生长导向因子semaphorin3C在个体发育及肿瘤发展过程中的作用

叶丽颖¹ 王恒² 叶军^{2*}

(¹福建卫生职业技术学院, 福州 350101; ²厦门大学生命科学学院, 厦门 361102)

摘要 Semaphorins家族是一类神经导向因子, 在发育过程中扮演着重要的角色。神经生长导向因子semaphorin3C(Sema3C)是分泌型semaphorins3亚家族的一个成员, 其在个体发育和在肿瘤发展过程中的作用成为近年来研究的热点。该文将重点阐述Sema3C在神经系统、肺部发育、视网膜发育、心脏发育及肿瘤发展过程中的作用。

关键词 神经导向因子; 个体发育; 肿瘤发展

The Role of Axon Guidance Cue Semaphorin3C in Development and Tumor Progress

Ye Liying¹, Wang Heng², Ye Jun^{2*}

(¹Fujian Health College, Fuzhou 350101, China; ²School of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract Semaphorins are a large family of axon guidance factors that play an important role in development. Axon guidance factor semaphorin3C (Sema3C), a member of secreted semaphorins3 subfamily, is becoming a hot research in the process of development especially in tumor progress in recent years. This review focuses on the role of Sema3C in the development of nervous system, lungs, retinal, heart and tumor progress.

Keywords semaphorin3C; development progress; tumor progress

Semaphorins家族基因最早在神经系统中发现, 主要对神经元导向起排斥作用。随着研究的深入, 人们逐步认识到semaphorins不仅仅在神经系统, 甚至在肺、心血管、牙齿及肿瘤发展过程中, 都起着重要的作用。Semaphorins3(Sema3s)亚家族包含7种分泌型的蛋白(semaphorin3A-semaphorin3G), 其中semaphorin3C(Sema3C)近年来在个体发育中的研究越来越多, 一些研究中发现Sema3C不仅在神经系统的导向中起作用, 而且在心脏的发育、肿瘤发展等

方面也发挥重要作用。本文就Sema3C在个体发育过程中作用的研究进展进行综述。

1 神经导向因子semaphorins3及其受体

1.1 Semaphorins3(Sema3s)

Semaphorins家族包括了30个基因, 至今仍有新的家族成员被发现, 如Sema6E^[1]。最初发现其在神经系统中可以控制神经系统的发育, 被归类于神经导向生长因子, 属于细胞表面可溶性的蛋白质家族^[2]。根据其结构特点(图1), 可分为八个亚族, 第一(Sema1s)和第二亚族(Sema2s)的semaphorins存在于无脊椎动物; 第三(Sema3s)至第七亚族(Sema7s)的semaphorins在脊椎动物中发现; 第八亚族(Sema8s)的semaphorins仅存在于病毒中^[3]。Semaphorins蛋白序列的N-端主要包括一个约500个氨基酸大小的Sema结构域, 同时, 许多Sema3s的Sema结构域

收稿日期: 2015-05-14 接收日期: 2015-07-06

福建省自然科学基金(批准号: 2011J01248)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0592-2185389, E-mail: jye@xmu.edu.cn

Received: May 14, 2015 Accepted: July 6, 2015

This work was supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (Grant No.2011J01248)

*Corresponding author. Tel: +86-592-2185389, E-mail: jye@xmu.edu.cn

网络出版时间: 2015-09-16 17:00:10

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150916.1700.002.html>

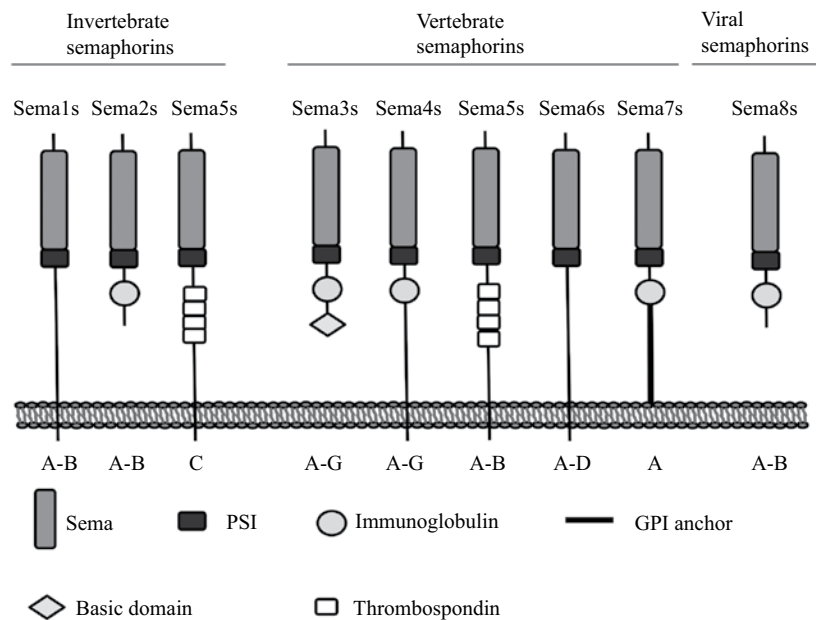


图1 Semaphorin家族的成员和结构(根据参考文献[3]修改)

Fig.1 Semaphorins' feature and functional structure (modified from reference [3])

中含有约70个氨基酸大小的结构,有结合特异性和特殊的生物活性^[4-5]。Sema结构域主要存在于semaphorin、受体Plexin及MET和RON受体酪氨酸激酶中。Sema结构域实际上包括了两部分: Sema结构域本身以及一个小的cys富集结构域。现有研究证实,semaphorins能够调控细胞骨架,控制细胞能动性,影响肿瘤的发展和肿瘤血管新生,调控神经生长和布局导向,同时也在一些免疫疾病中起到了一定的作用^[3,6-8]。

Sema3s是Semas亚族在脊椎动物中唯一一类分泌型的蛋白,其C-末端有一个高度保守的基本结构域(basic domain),包含了A-G七个成员。其他亚族的semaphorins以膜锚定或者跨膜蛋白形式存在,这些蛋白需要进一步被剪切才能形成可溶性蛋白,这使得它们可以直接扩散而在近、远距离部位发挥效应^[3]。Sema3s上有两个保守的Furin-like pro-protein转化酶剪切位点,可以被剪切加工^[9]。Furin-like pro-protein转化酶在许多癌症中能增加肿瘤细胞的侵袭和增殖能力^[10]。Sema3s和Sema6s通常是以同二聚体的形式来行使其功能的^[11-13]。Semaphorins是否都是以同二聚体的形式与受体作用仍需进一步的验证。

1.2 受体Neuropilins和Plexins

Sema3s的受体主要有两大家族,即Neuropilins(Nrps)和Plexins(图2)^[14]。Nrps家族有两个成员,Nrp1和Nrp2。Nrp1是Sema3A行使功能的主要受体^[15-16],

Nrp2是Sema3F行使功能的主要受体,而Sema3C既可以结合Nrp1又可以结合Nrp2^[16-17]。但由于Nrps在细胞内的结构域较小,所以无法单独介导semaphorins的细胞信号转导,Plexin被证实与Nrps结合形成受体复合物来传递semaphorins的信号^[18-21]。

1.2.1 Neuropilins Nrps是一类跨膜蛋白。其胞外结构域包含两个补体结合结构域(a1和a2,负责与semaphorins结合)、两个凝结因子V/VIII同源结构域(b1/b2,负责与VEGF家族和Heparin结合)以及一个MAM结构域(c,主要在Nrps二聚化时发挥作用)(图2)^[22]。Sema3s结合了Nrps之后,需和Plexins结合形成共同受体(co-receptor),在器官形成、细胞迁移和细胞免疫等方面起到了重要的作用^[23]。在小鼠中,基因敲除*Nrp1*能够使得小鼠胚胎致死,致死的小鼠在血管系统发育中存在缺陷^[24-25]。相对于*Nrp1*敲除的胚胎致死现象,在小鼠中敲除*Nrp1*后小鼠可以存活并且在血管系统没有缺陷,但*Nrp1*敲除小鼠淋巴系统在发育中却存在着分枝缺失的现象^[26]。这说明,Nrp1和Nrp2在分别在血管和淋巴管系统的发育中有重要的功能作用。

1.2.2 Plexins Plexin家族是单跨膜蛋白受体,共有九个成员,分为A、B、C和D四类(图2)。与semaphorins类似,Plexins有细胞外的Sema结构域,PSI(Plexins、Sema及integrins)结构域和IPT(Ig-like、Plexins及transcription factors)结构域^[14]。其中,

Sema3E直接和特异性的结合PlexinD1控制血管形态^[27], 其他的Sema3s不直接结合Plexins而和Nrps结合^[18-19]。Plexins胞内的结构域具有GTPase激活蛋白(GAPs)活性, 并对小分子GTPase, 如R-Ras具有GAP活性^[28]。

2 Sema3C在发育过程中的作用

Sema3C最初是在小鼠中发现的, 并将其命名为semaphorinE^[29], Sema3C在胚胎组织器官发育过程中有着重要的作用。

2.1 Sema3C在心脏及血管发育中的作用

为在体内研究Sema3C的功能, Feiner等^[30]在小鼠内通过靶向突变的方法在基因组DNA上使Sema3C基因失活, 结果发现, 该突变体在出生后的几小时内死亡, 死亡原因是由主动脉弓的中断和心室流出道异常的分隔形成的先天性心血管缺陷所引起。该表型和已报导的鸡胚心脏神经嵴的切除^[31]及人先天性心脏缺陷表型类似。心脏神经嵴细胞(neural crest cells, NCCs)参与心血管发育过程中的心脏流出道的重塑。研究表明, Sema3C增强了NCCs向邻近的心室流出道的迁移^[30]。而PlexinA2很可能在NCCs中作为Sema3C的受体存在^[31]。Sema3C对NCCs的吸引力会随着PlexinA2、Nrp1和PlexinD1在神经中表达的降低而减弱。在心脏NCCs迁移的调控中, Sema6A/Sema6B通过与受体PlexinA2结合起到排斥作用, 而Sema3C通过与PlexinD1结合起到吸引作用^[32]。miRNA-加工酶Dicer对于心室流出道的分隔是必需的, 在Dicer敲除之后, Sema3C的表达

提高^[33]。转录因子GATA6很可能直接调控Sema3C和它的受体PlexinA2的表达, 因为GATA6的突变可干扰semaphorin-plexin信号通路引起心室流出道产生缺陷^[34]。在人的内皮细胞(endothelial cells, ECs)及小鼠动脉内皮细胞中不表达Sema3C^[35-36]。在圆锥动脉干畸形中, 黏附因子缺陷的NCCs形成的间叶组织更少, 并伴随着基底膜聚糖和Sema3C表达的减少, 并在主动脉肺动脉隔中出现F-肌动蛋白纤维紊乱的现象^[37]。Banu等^[38]体内研究发现, Sema3C通过刺激整合蛋白 β 1丝氨酸的磷酸化和VEGF120的分泌促进小鼠肾小球内皮细胞的增殖、黏附、迁移和成管, 其功能类似于VEGF-A, 而与Sema3A功能相反, 可能通过自分泌的形式调控。

2.2 Sema3C在神经系统中的作用

Sema3C对皮质神经元起着吸引的作用。在胚胎干细胞来源的多巴胺能神经元细胞1(dopaminergic neurons generated from embryonic stem cells 1, ES-TH1)和胚腹侧中脑来源的酪氨酸羟化酶阳性神经元细胞1(tyrosine hydroxylase-positive neurons obtained from embryonic ventral mesencephalon 1, VM-TH1)中, Nrp1与Nrp2有着相似的表达。用semaphorin刺激该种类细胞, 发现Sema3A能够增加轴突长度, Sema3C能够吸引轴突并增加其长度。通过抗体封闭Nrps证实, Sema3A和Sema3C蛋白的这些作用是受到Nrps调控的^[39]。但在体外实验中, 隔海马(septohippocampal, SH)的 γ -氨基丁酸信号通路的形成并不依赖于Sema3C^[40]。在成年的大脑突触重组模型中, 利用红藻氨酸(kainic acid, KA)诱导癫

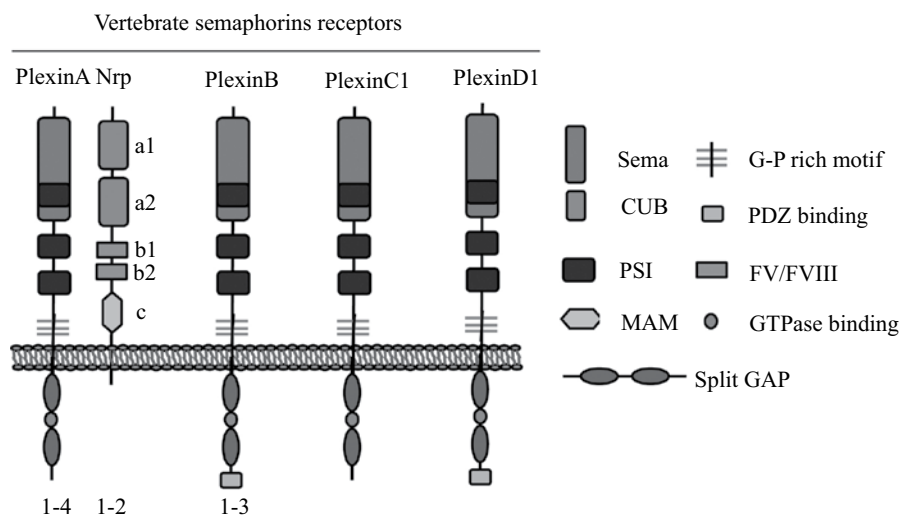


图2 Semaphorins受体的结构图(根据参考文献[14]修改)

Fig.2 The structure of semaphorins' receptors (modified from reference [14])

痫持续状态(status epilepticus, SE)。在KA诱导的SE的第一周内, 原位杂交结果显示, *Sema3C*在海马回的CA1区域中mRNA表达下降, 但在大脑皮层的上层中增加; *Sema3F*在海马回的CA1和CA3中也下降。这些基因的表达变化主要限制在神经元中, 这说明神经元可能通过调控神经导向因子的表达从而有利于成熟大脑损伤后突触的重建, 因此, *semaphorin*基因表达位置的改变可能作为癫痫患者大脑中突触重建的特殊网络标记^[41]。在体外实验中, *Sema3C*能够增强大鼠小脑颗粒神经元(cerebellar granule neurons, CGNs)的生存能力, 并诱导CGNs神经轴突生存, 这可能和CGNs表达Nrp1和Nrp2有关。在胚胎大鼠大脑中, 前顶盖表达*Sema3C*和*Sema3F*以及纹状体中表达*Sema3A*。*Sema3C*能够吸引并提高多巴胺神经元的生长, *Sema3A*提高神经元生长, 而*Sema3F*对多巴胺神经元具有排斥作用。在前顶盖中, 抗Nrp1和Nrp2抗体能减少吸引作用, 而当抗Nrp1抗体存在时对纹状体的吸引作用不受影响。这说明*semaphorins*在胚胎发育过程中有可能有助于建立中脑到纹状体的多巴胺信号通路^[42]。脑胼胝体(corpus callosum, CC)是大脑半球联系的主要通路。CC发育不全和人类的病理学有关。CC神经元对正常的胼胝体轴突的导向有重要的作用, 并起吸引作用, 在一定程度上是通过*Sema3C*及其受体Nrp1实现的^[43]。在体外实验中, *Sema3C*能够吸引胚胎干细胞衍生的多巴胺(dopamine, DA)神经元, 并促进其生长。在纹状体内DA神经元共移植转染*Sema3C*的HEK293细胞时, 能够使帕金森小鼠行为恢复, 释放DA, 并导致DA神经元从黑质扩展至纹状体。这对成人的帕金森病患者的治疗具有一定的参考价值^[44]。在原癌基因*ret*野生型和无*ret*小鼠中, *Sema3A*、*Sema3C*和*Sema3D*在肠神经系统(enteric nervous system, ENS)中特异性地表达, 其中*Sema3C*仅在E15.5肠中的少数ENS细胞中检测到, 在更早或者更晚阶段都无法检测到。在斑马鱼胚胎中, *Sema3C/3D*下调能够减少ENS前体细胞的迁移, 同时, 如果结合*ret*功能的缺失能够完全抑制ENS前体细胞的迁移。说明*Sema3C/3D*信号在生物进化中调控ENS发育, 该信号的缺失是肠道神经节细胞缺乏症的成因之一^[45]。

2.3 *Sema3C*在其他发育过程中的作用

在小鼠下颚体外组织培养过程中当Nrp1功能被抑制后, 唾液腺的裂纹形成会受到抑制, 依赖Nrp1

的这一形态发生是受到*Sema3A*与*Sema3C*调控的^[46]。在成年大鼠荧光标记物标记的视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)中, *Sema3B*和*Sema3C*的表达比较高, 而*Sema3A*的表达比较低。在RGCs中, 新生大鼠的视网膜mRNA表达的水平比较低, 但出生后14 d和成年类似。出生时, *Nrp2*和*PlexinA2* mRNA的表达在孵育的细胞核内层及神经节细胞层中明显表达, 出生后表达量增加并维持至成年^[47]。在体外实验中, 提取出生后1 d的*Sema3A*、*Sema3C*、*Sema3E*和*Sema3F*蛋白, 发现它们能够诱导RGCs生长锥塌陷。更重要的是, 这个发育时期的RGCs生长并进入上丘, 接触*Sema3*配体。这些说明*Sema3s*可能在大鼠视网膜的发育过程中扮演着某种特定的角色^[48]。研究还表明, 在体内, *Sema3C*和白色脂肪组织肥大及纤维化有关联; 在体外, 它能增强未成熟脂肪细胞中细胞外基质(纤连蛋白、弹性蛋白和胶原蛋白I)和基质细胞因子(结缔组织生长因子、IL6和转化生长因子 β 1)的产生或分泌, 说明*Sema3C*是一个脂肪因子, 调控体重的改变^[49]。在肺组织中, *Sema3C*主要表达于叶支气管上皮细胞和终末肺泡上皮细胞中, Nrp2与*Sema3C*分布相似, 主要表达叶支气管, 由此推测*Sema3C*通过与Nrp2结合来促进肺分支的形成^[50]。在体内实验中, 大鼠出生后肺泡发育的阶段, 利用siRNA下调*Sema3C*会引起气腔的扩大。在新生大鼠中, 利用O₂诱导组织肺泡生长的模型中, 气腔扩大和肺部*Sema3C*的mRNA表达下降相关。在体外, 高氧条件下*Sema3C*处理后的细胞保留了肺泡上皮细胞活性并提高了其创伤愈合的能力, 并且保留了肺微血管内皮细胞血管成网能力。在体内, *Sema3C*处理的高氧环境中的大鼠, 肺部白细胞的汇集减少, 并保留了肺泡和肺部血管生长。这些说明, *Sema3C*促进肺泡发育和修复^[51]。

2.4 *Sema3C*在肿瘤发展中的作用

*Sema3C*作为*Sema3s*家族的分泌成员, 起着促进或者抑制肿瘤发生发展的作用(表1)。HAL-8Luc和HAL-24Luc是两种人类肺癌细胞系。前者是高转移细胞株, 通过静脉或肌肉注射小鼠都可以在肺内形成转移灶, 而后者却不具备这种特性。研究发现, *Sema3C*的mRNA表达水平在高转移性人类肺癌细胞系HAL-8Luc中明显高于在HAL-24Luc的表达^[52]。Herman等^[53]研究发现, 过表达*Sema3C*增强前列腺癌PC-3细胞的黏附和侵袭能力, 并且过

表达Sema3C的PC-3细胞 β -catenin和E-cadherin的表达降低,说明Sema3C能促进肿瘤细胞的上皮-间质转化途径(epithelial mesenchymal transitions, EMT)^[54]。ADAMTS1(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 1)是一种基质金属蛋白酶,诱导Sema3C的剪切并产生的p95蛋白促进了乳腺癌细胞的迁移,表明这些分子在肿瘤中的共表达可能有助于肿瘤的转移。在B16(F10)鼠类黑色素瘤中,下调*Nrp1*后显著增加B16(F10)细胞整体的迁移并改变它们的形态。*Nrp1*沉默的B16(F10)细胞对Sema3A的反应降低,而Sema3C结合到*Nrp1*沉默的B16(F10)细胞并不发生改变,其化学排斥活性也没有发生改变,说明Sema3A由*Nrp1*介导B16(F10)细胞迁移能力,而Sema3C在此过程中的影响并不显著^[55]。另外也有研究发现,Sema3C在恶性神经胶质瘤细胞以及一种卵巢癌细胞系TYKnuR中的表达水平比在正常组织中的表达水平要高。这提示Sema3C在肿瘤发生发展中可能起促进作用,并且这种作用具有较广的范围^[56]。Yamada等^[57]研究发现,具cisdiamminedichloroplatinum(II)(CDDP)抗药性的TYKnuR细胞中Sema3C的mRNA表达水平相对较高,在药物作用、紫外线照射和X射线等环境中,它的生存能力比Sema3C低表达的细胞明显增强,说明Sema3C可能在维持肿瘤细胞生存的机制中发挥重要作用。在人体胃癌样本中,Sema3C有强烈的表达。在体外实验中,稳转Sema3C miRNA靶序列并不影响人类胃癌AZ-521细胞的增殖活性。在体内实验中,利用裸鼠原位模型检测肿瘤生长,发现原发性胃肿瘤细胞和转移性的肝肿瘤细胞在Sema3C沉默的情况下生长受到抑制,这和微血管密度的减少有关,并且Sema3C沉默的肿瘤细胞中凋亡的细胞数目显著增加。此外,与对照组相比,添加Sema3C miRNA细胞的培养基使毛细血管样成管显著减少。这些结果说明,Sema3C在胃癌发展进程中很可能起促进作用^[58]。神经胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSCs)优先分泌Sema3C并同时表达其受体PlexinA2/D1,并通过自分泌的形式来激活Rac1/NF- κ B信号从而提高自身的存活。但Sema3C在神经前体细胞(neural progenitor cells, NPCs)或者非干细胞肿瘤细胞(non-stem tumor cell, NSTCs)中不表达。破坏Sema3C会诱导GSCs凋亡,而对NPCs或NSTC不影响,且在原位的恶性胶质瘤中抑制肿瘤的生长。在

表1 Sema3C对各种肿瘤的影响

肿瘤类型 Type of tumor	影响 Effect	参考文献 Reference
Melanoma	Metastasis -	[55]
Gastric cancer	Proliferation \uparrow	[58]
	Angiogenesis \uparrow	[58]
Ovarian cancer	Proliferation \uparrow	[56-57]
Breast cancer	Metastasis \uparrow	[54]
	Angiogenesis & lymphangiogenesis \downarrow	[58]
Glioma stem cells	Proliferation \uparrow	[59]
Lung cancer	Metastasis \uparrow	[52]
Prostate cancer	Adhesion & invasion \uparrow	[53]

体内实验中,引入激活的Rac1可以恢复Sema3C下调后出现的表型,说明Sema3C可作为靶基因来提高恶性胶质瘤的治疗^[59]。全长的Sema3C通过依赖于其受体*Nrp2*、PlexinD1及PlexinA1的方式来诱导淋巴内皮细胞(lymphatic endothelial cells, LEC)细胞骨架塌陷,但被Furin-like pro-protein转化酶剪切后的Sema3C(p65-Sema3C)并不能诱导LEC细胞骨架塌陷。进行点突变抗剪切的Sema3C(FR-Sema3C)能有力地抑制LEC的增殖并较小程度地抑制人脐静脉内皮细胞(umbilical vein derived endothelial cells, HUVEC)的增殖。FR-Sema3C抑制VEGF-C诱导的VEGFR-3、ERK1/2、AKT的磷酸化。在LM2-4乳腺癌体外实验中,重组FR-Sema3C的表达并不影响它们的迁移或增殖。但在小鼠肿瘤细胞原位移植的体内实验中,表达FR-Sema3C的LM2-4肿瘤细胞发育减缓,形成的原位瘤的血管和淋巴管密度降低,并且转移到淋巴结的机率显著减少。该结果说明,FR-Sema3C起到了抑制肿瘤的作用,FR-Sema3C很可能成为特异的抗肿瘤药物之一^[60]。

3 展望

随着深入的研究发现,Sema3C在个体发育过程中扮演着越来越重要的角色,此外,其在肿瘤发展进程中也有作用。正是由于Sema3C的受体比较多,导致下游的信号通路具有一定的复杂性,从而给研究带来一定的挑战性。Furin-like pro-protein转化酶能够对Sema3C的两个部位进行剪切,剪切后产生的p95形式的Sema3C促进乳腺癌细胞的迁移。而FR-Sema3C诱导LEC细胞骨架塌陷,但被Furin-like pro-protein转化酶剪切后的Sema3C(p65-Sema3C)并

不能诱导LEC细胞骨架塌陷, 并且FR-Sema3C表现出抗肿瘤发展作用。Furin-like pro-protein转化酶对Sema3C的剪切产生的不同形式的Sema3C在个体发育中的作用是否相同也有待于进一步的研究。因此, 讨论Sema3C在个体发育中的作用对于后续Sema3C的开发应用具有十分重要的作用。

参考文献 (References)

- 1 Taniguchi M, Masuda T, Mikami Y, Kimura M, Yoshida T, Mishina M, *et al.* Identification and characterization of a novel zebrafish semaphorin. *Neurosci Lett* 2011; 488(2): 215-20.
- 2 Kruger RP, Aurandt J, Guan KL. Semaphorins command cells to move. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(10): 789-800.
- 3 Neufeld G, Kessler O. The semaphorins: Versatile regulators of tumour progression and tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2008; 8(8): 632-45.
- 4 Gherardi E, Love CA, Esnouf RM, Jones EY. The sema domain. *Curr Opin Struct Biol* 2004; 14(6): 669-78.
- 5 Koppel AM, Feiner L, Kobayashi H, Raper JA. A 70 amino acid region within the semaphorin domain activates specific cellular response of semaphorin family members. *Neuron* 1997; 19(3): 531-7.
- 6 Tran TS, Kolodkin AL, Bharadwaj R. Semaphorin regulation of cellular morphology. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; 23: 263-92.
- 7 Melani M, Weinstein BM. Common factors regulating patterning of the nervous and vascular systems. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2010; 26: 639-65.
- 8 Vadasz Z, Toubi E. Semaphorins: Their dual role in regulating immune-mediated diseases. *Clin Rev Allergy Immunol* 2014; 47(1): 17-25.
- 9 Adams RH, Lohrum M, Klostermann A, Betz H, Puschel AW. The chemorepulsive activity of secreted semaphorins is regulated by furin-dependent proteolytic processing. *EMBO J* 1997; 16(20): 6077-86.
- 10 Bassi DE, Fu J, Lopez de Cicco R, Klein-Szanto AJ. Proprotein convertases: "Master switches" in the regulation of tumor growth and progression. *Mol Carcinog* 2005; 44(3): 151-61.
- 11 Klostermann A, Lohrum M, Adams RH, Puschel AW. The chemorepulsive activity of the axonal guidance signal semaphorin D requires dimerization. *J Biol Chem* 1998; 273(13): 7326-31.
- 12 Liu H, Juo ZS, Shim AH, Focia PJ, Chen X, Garcia KC, *et al.* Structural basis of semaphorin-plexin recognition and viral mimicry from Sema7A and A39R complexes with PlexinC1. *Cell* 2010; 142(5): 749-61.
- 13 Nogi T, Yasui N, Mihara E, Matsunaga Y, Noda M, Yamashita N, *et al.* Structural basis for semaphorin signalling through the plexin receptor. *Nature* 2010; 467(7319): 1123-7.
- 14 Sakurai A, Doci CL, Gutkind JS. Semaphorin signaling in angiogenesis, lymphangiogenesis and cancer. *Cell Res* 2012; 22(1): 23-32.
- 15 He Z, Tessier-Lavigne M. Neuropilin is a receptor for the axonal chemorepellent Semaphorin III. *Cell* 1997; 90(4): 739-51.
- 16 Kolodkin AL, Levengood DV, Rowe EG, Tai YT, Giger RJ, Ginty DD. Neuropilin is a semaphorin III receptor. *Cell* 1997; 90(4): 753-62.
- 17 Chen H, Chedotal A, He Z, Goodman CS, Tessier-Lavigne M. Neuropilin-2, a novel member of the neuropilin family, is a high affinity receptor for the semaphorins Sema E and Sema IV but not Sema III. *Neuron* 1997; 19(3): 547-59.
- 18 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.
- 19 Tamagnone L, Artigiani S, Chen H, He Z, Ming GI, 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.
- 20 Winberg ML, Noordermeer JN, Tamagnone L, Comoglio PM, Spriggs MK, Tessier-Lavigne M, *et al.* Plexin A is a neuronal semaphorin receptor that controls axon guidance. *Cell* 1998; 95(7): 903-16.
- 21 Pasterkamp RJ, Ruitenberg MJ, Verhaagen J. Semaphorins and their receptors in olfactory axon guidance. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 1999; 45(6): 763-79.
- 22 Geretti E, Shimizu A, Klagsbrun M. Neuropilin structure governs VEGF and semaphorin binding and regulates angiogenesis. *Angiogenesis* 2008; 11(1): 31-9.
- 23 Nakamura F, Goshima Y. Structural and functional relation of neuropilins. *Adv Exp Med Biol* 2002; 515: 55-69.
- 24 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.
- 25 Mukoyama YS, Gerber HP, Ferrara N, Gu C, Anderson DJ. Peripheral nerve-derived VEGF promotes arterial differentiation via neuropilin 1-mediated positive feedback. *Development* 2005; 132(5): 941-52.
- 26 Yuan L, Moyon D, Pardanaud L, Breant C, Karkkainen MJ, Alitalo K, *et al.* Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice. *Development* 2002; 129(20): 4797-806.
- 27 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.
- 28 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.
- 29 Puschel AW, Adams RH, Betz H. Murine semaphorin D/collapsin is a member of a diverse gene family and creates domains inhibitory for axonal extension. *Neuron* 1995; 14(5): 941-8.
- 30 Feiner L, Webber AL, Brown CB, Lu MM, Jia L, Feinstein P, *et al.* Targeted disruption of semaphorin 3C leads to persistent truncus arteriosus and aortic arch interruption. *Development* 2001; 128(16): 3061-70.
- 31 Brown CB, Feiner L, Lu MM, Li J, Ma X, Webber AL, *et al.* PlexinA2 and semaphorin signaling during cardiac neural crest development. *Development* 2001; 128(16): 3071-80.
- 32 Toyofuku T, Yoshida J, Sugimoto T, Yamamoto M, Makino N, Takamatsu H, *et al.* Repulsive and attractive semaphorins cooperate to direct the navigation of cardiac neural crest cells. *Dev Biol* 2008; 321(1): 251-62.
- 33 Saxena A, Tabin CJ. miRNA-processing enzyme Dicer is

- necessary for cardiac outflow tract alignment and chamber septation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(1): 87-91.
- 34 Kodo K, Nishizawa T, Furutani M, Arai S, Yamamura E, Joo K, *et al.* GATA6 mutations cause human cardiac outflow tract defects by disrupting semaphorin-plexin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(33): 13933-8.
- 35 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.
- 36 Damon DH. Vascular endothelial-derived semaphorin 3 inhibits sympathetic axon growth. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290(3): H1220-5.
- 37 Vallejo-Illarramendi A, Zang K, Reichardt LF. Focal adhesion kinase is required for neural crest cell morphogenesis during mouse cardiovascular development. *J Clin Invest* 2009; 119(8): 2218-30.
- 38 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.
- 39 Tamariz E, Diaz-Martinez NE, Diaz NF, Garcia-Pena CM, Velasco I, Varela-Echavarria A. Axon responses of embryonic stem cell-derived dopaminergic neurons to semaphorins 3A and 3C. *J Neurosci Res* 2010; 88(5): 971-80.
- 40 Rubio SE, Martinez A, Chauvet S, Mann F, Soriano E, Pascual M. Semaphorin 3C is not required for the establishment and target specificity of the GABAergic septohippocampal pathway in vitro. *Eur J Neurosci* 2011; 34(12): 1923-33.
- 41 Barnes G, Puranam RS, Luo Y, McNamara JO. Temporal specific patterns of semaphorin gene expression in rat brain after kainic acid-induced status epilepticus. *Hippocampus* 2003; 13(1): 1-20.
- 42 Hernandez-Montiel HL, Tamariz E, Sandoval-Minero MT, Varela-Echavarria A. Semaphorins 3A, 3C, and 3F in mesencephalic dopaminergic axon pathfinding. *J Comp Neurol* 2008; 506(3): 387-97.
- 43 Niquille M, Garel S, Mann F, Hornung JP, Otsmane B, Chevalley S, *et al.* Transient neuronal populations are required to guide callosal axons: A role for semaphorin 3C. *PLoS Biol* 2009; 7(10): e1000230.
- 44 Diaz-Martinez NE, Tamariz E, Diaz NF, Garcia-Pena CM, Varela-Echavarria A, Velasco I. Recovery from experimental parkinsonism by semaphorin-guided axonal growth of grafted dopamine neurons. *Mol Ther* 2013; 21(8): 1579-91.
- 45 Jiang Q, Arnold S, Heanue T, Kilambi KP, Doan B, Kapoor A, *et al.* Functional Loss of Semaphorin 3C and/or Semaphorin 3D and Their epistatic interaction with ret are critical to hirschsprung disease liability. *Am J Hum Genet* 2015; 96(4): 581-96.
- 46 Chung L, Yang TL, Huang HR, Hsu SM, Cheng HJ, Huang PH. Semaphorin signaling facilitates cleft formation in the developing salivary gland. *Development* 2007; 134(16): 2935-45.
- 47 de Winter F, Cui Q, Symons N, Verhaagen J, Harvey AR. Expression of class-3 semaphorins and their receptors in the neonatal and adult rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(12): 4554-62.
- 48 Sharma A, LeVaillant CJ, Plant GW, Harvey AR. Changes in expression of class 3 semaphorins and their receptors during development of the rat retina and superior colliculus. *BMC Dev Biol* 2014; 14: 34.
- 49 Mejhert N, Wilfling F, Esteve D, Galitzky J, Pellegrinelli V, Kolditz CI, *et al.* Semaphorin 3C is a novel adipokine linked to extracellular matrix composition. *Diabetologia* 2013; 56(8): 1792-801.
- 50 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.
- 51 Vadivel A, Alphonse RS, Collins JJ, van Haften T, O'Reilly M, Eaton F, *et al.* The axonal guidance cue semaphorin 3C contributes to alveolar growth and repair. *PLoS One* 2013; 8(6): e67225.
- 52 Martin-Satue M, Blanco J. Identification of semaphorin E gene expression in metastatic human lung adenocarcinoma cells by mRNA differential display. *J Surg Oncol* 1999; 72(1): 18-23.
- 53 Esselens C, Malapeira J, Colome N, Casal C, Rodriguez-Manzanique JC, Canals F, *et al.* The cleavage of semaphorin 3C induced by ADAMTS1 promotes cell migration. *J Biol Chem* 2010; 285(4): 2463-73.
- 54 Herman JG, Meadows GG. Increased class 3 semaphorin expression modulates the invasive and adhesive properties of prostate cancer cells. *Int J Oncol* 2007; 30(5): 1231-8.
- 55 Mazurek AM, Olbryt M. The influence of neuropilin-1 silencing on semaphorin 3A and 3C activity in B16 (F10) murine melanoma cells. *Neoplasma* 2012; 59(1): 43-51.
- 56 Rieger J, Wick W, Weller M. Human malignant glioma cells express semaphorins and their receptors, neuropilins and plexins. *Glia* 2003; 42(4): 379-89.
- 57 Yamada T, Endo R, Gotoh M, Hirohashi S. Identification of semaphorin E as a non-MDR drug resistance gene of human cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(26): 14713-8.
- 58 Miyato H, Tsuno NH, Kitayama J. Semaphorin 3C is involved in the progression of gastric cancer. *Cancer Sci* 2012; 103(11): 1961-6.
- 59 Man J, Shoemake J, Zhou W, Fang X, Wu Q, Rizzo A, *et al.* Sema3C promotes the survival and tumorigenicity of glioma stem cells through Rac1 activation. *Cell Rep* 2014; 9(5): 1812-26.
- 60 Mumblat Y, Kessler O, Ilan N, Neufeld G. Full length semaphorin-3c is an inhibitor of tumor lymphangiogenesis and metastasis. *Cancer Res* 2015; 75(11): 2177-86.