

细胞“天线”——纤毛研究的前世今生

张银聪 鄢秀敏 沈义栋*

(中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所,
细胞生物学国家重点实验室, 细胞信号网络协同创新中心, 上海 200031)

摘要 纤毛(cilia)作为突起于细胞表面的细长管状结构, 近年来已成为细胞生物学领域的研究热点之一。纤毛可分为动纤毛和静纤毛, 它们在生物的发育和生长过程中起着极为重要的作用。该文拟简单概述纤毛的研究历史, 并通过纤毛领域近年来的重要发现来进一步介绍纤毛的结构组成及其相关信号调节在疾病和衰老中的作用。

关键词 纤毛; 纤毛内转运; 信号通路; 外泌体; 纤毛相关疾病

Cell “Antenna”: Looking at Cilia for Past, Present, and Future

ZHANG Yincong, YAN Xiumin, SHEN Yidong*

(State Key Laboratory of Cell Biology, Innovation Center for Cell Signaling Network, CAS Center for Excellence in Molecular Cell Science, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Cilia are slender cellular protrusions that have recently been in the spot light of cell biology. Cilia are divided into motile cilia and primary cilia, both of which are very important in development and survival. Here, we briefly review the the discovery of cilia and recent advances in the identification and characterization of ciliary structure and signaling pathways, highlighting its role in disease and aging.

Keywords cilia; intraflagellar transport; signaling pathway; exosome; ciliopathy

纤毛(cilia)主要由微管构成, 是突起于细胞表面的一类高度保守的细胞器。纤毛可分为动纤毛(motile cilia)和初级纤毛(primary cilia)。动纤毛通过不断摆动来帮助细胞运动或改变周围液体环境。初级纤毛则出现在几乎所有真核动物细胞表面, 在生物发育及各种生理功能中扮演着重要角色。纤毛作为一个非常原始的细胞器, 常被形象地比喻为细胞的“天线”。这根“天线”为何存在, 它接受什么信号, 又能发射什么信号, 这里还有很多未知等待着我们去探索。在此, 我们将详细介绍纤毛的前世今生, 对纤毛的发现历史和最新研究进展作一综述, 为纤毛在疾病和衰老中的调控机制探讨提供理论

基础。

1 纤毛的发现历程

纤毛的发现最早可追溯到17世纪, 人们第一次在放大200多倍的显微镜下观测到鞭毛虫^[1], 并把鞭毛虫描述为“中间绿, 两端白”的虫子, 把鞭毛虫的鞭毛结构形容为“快速移动的脚步”。随着显微镜的发展和推广, 越来越多的生物被发现具有鞭毛(flagella)结构。1718年, 法国博物学家Louis Joblot^[2]发现一种拖鞋状单细胞动物周围长满纤毛, 这些纤毛一收一放地摆动, 像船桨一样推动细胞前进和后退。1773年, 人们将其命名为“草履虫”^[3], 它是原生动物中运动速

收稿日期: 2019-02-28 接受日期: 2019-05-31

国家自然科学基金(批准号: 91749119)资助的课题

*通讯作者。Tel: +86-21-54921171, E-mail: yidong.shen@sibcb.ac.cn

Received: February 28, 2019 Accepted: May 31, 2019

This work was supported by the Natural Science Foundation of China (Grant No.91749119)

*Corresponding authors. Tel: +86-21-54921171, E-mail: yidong.shen@sibcb.ac.cn

网络出版时间: 2019-12-11 11:34:52 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20191211.1134.044.html>

度最快的一类。纤毛和鞭毛有着极为相似的结构,有时也可不互相区分。鞭毛常常指细胞表面一根或两根较长的突起,是细胞运动的重要结构;而纤毛多以较短且较密集的突起出现,通过摆动感受周围液体环境^[4]。有时我们也把鞭毛称为动纤毛。动纤毛不断进行着有规律的摆动,从而协助细胞进行运动和摄食。

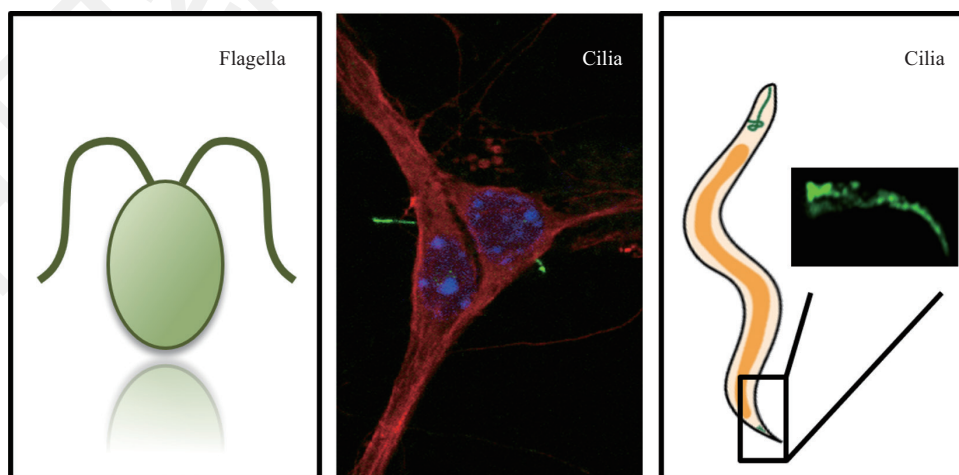
不仅动物细胞有纤毛,植物细胞也有纤毛。单细胞真核生物衣藻广泛分布在世界各地的土壤和湖泊中,它们依靠细胞前端两根长长的鞭毛进行运动和交配等^[5](图1)。1945年,研究者们将衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)作为模式生物引入实验室^[6],从此衣藻在纤毛研究的历史舞台上留下了浓墨重彩的一笔。

纤毛帮助细胞运动和摄食的作用在很大程度上依赖于周围流动的水环境^[7]。随着进化的演变,很多生物离开海洋逐渐开始适应陆地生活,纤毛对于它们似乎显得不再重要。真菌、高等植物等,都不再有原始的纤毛结构^[8]。在部分植物中,花粉的精子细胞仍保留有长长的鞭毛,以帮助它们在花粉管里进行长距离的运动完成授粉^[9]。同样地,动物的精子也有长长的尾巴帮助它们在体液中进行快速游动。很长一段时间里,科学家们认为多细胞生物中只有精子有鞭毛,且纤毛的主要作用就是帮助细胞运动。

1898年, Zimmerman^[10]发现,在哺乳动物肾细胞中也有纤毛存在。大多数肾细胞表面只有一根纤毛,极少数细胞能找到两根纤毛。这些纤毛长度在3~10 μm

之间,远短于鞭毛的长度(50~150 μm),它们会随着液体流动而弯曲,但并不会协助细胞运动。到了20世纪60年代,人们发现真核动物的很多细胞表面都有纤毛(图1)。1968年, Sorokin^[11]分离得到大鼠胎儿的肺部细胞(尚未生成完整的肺),并对其表面的纤毛结构进行了深入研究。通过透射电镜观察发现,这些纤毛与动纤毛有着不同的微管组成。他第一次把它们命名为“初级纤毛”,或静纤毛。然而之后的一百多年,纤毛研究一直被大多数科学家忽视,人们觉得初级纤毛只是一种退化的细胞结构并没有任何作用。

纤毛在神经细胞上也被普遍观察到。内耳的毛细胞表面覆满纤毛^[12],鼻腔上皮细胞上也有成簇的纤毛^[13],视细胞的感光部分靠纤毛连接内段和外段^[14]。2002年的诺贝尔奖获得者Sydney Brenner在1963年给Max Perutz的书信中曾预言,未来生物学最重要的问题之一是回答神经系统如何工作,并指出研究多细胞生物如何调控纤毛将会是很有意思的方向(<http://elegans.swmed.edu/Sydney.html>)。Sydney Brenner第一个将线虫作为模式生物引入实验室,开启了多细胞生物研究的新天地。1973年,有报道指出,线虫依靠神经细胞上的纤毛感受外界气味、盐浓度等刺激,纤毛缺失的突变体线虫丧失了对化学物质的识别能力^[15](图1)。该研究指出,纤毛在神经系统中有非常重要的感知作用,是外界信号传入体内的第一道大门。然而当时的人们并不知道纤毛为什么能响应外界刺激。



从左至右分别为: 衣藻鞭毛、真核细胞纤毛(绿色)、线虫尾部神经纤毛。

From left to right: flagella in *Chlamydomonas reinhardtii*, cilia in eukaryocyte, cilia in phasmid neurons of *C. elegans*.

图1 纤毛广泛存在于细胞表面

Fig.1 Cilia are expressed widely in cells

90年代后期,随着显微镜技术的不断发展,人们发现,几乎所有真核细胞的表面都有纤毛。纤毛的内部结构和功能也越来越引起科学家们的关注。1997年, *Nature* 上一篇报道指出纤毛内的动力蛋白基因突变会影响动物胚胎发育时期的左右不对称形成^[16],这使人们意识到纤毛不仅和运动有关,还可能参与信号传导。2000年10月, *JCB* 杂志上一篇文章指出,编码衣藻的纤毛内转运蛋白的基因 *IFT88* 突变会影响鞭毛的形成,而其同源基因 *Tg737* 在小鼠中的突变则直接导致多囊肾综合征使小鼠出生致死^[17]。这项研究工作提示,初级纤毛并不是无用的细胞器,纤毛相关蛋白不仅会影响纤毛结构,还会导致严重的疾病,且其结构调控基因在低等生物和高等生物中具有高度的保守性。之后越来越多的研究表明,纤毛在很多信号通路上都有非常重要的作用。纤毛表面分布着许多跨膜受体,它们可以被不同的外界信号激活,从而引发细胞内的一系列级联反应并调控众多生理代谢途径。因此,纤毛被形象地称为“细胞天线”^[18]。

2 纤毛的生成及其微管结构

20世纪中期,科学家们第一次用电子显微镜观察纤毛并对其内部结构进行了详细描述^[11]。纤毛由基体、过渡区、轴丝、纤毛膜构成(图2)。基体位于细胞体内,是由9个三联体微管蛋白组成的圆柱状结构,与中心粒结构十分相似^[19]。在细胞分裂间期,中心粒顶端在远端附属纤维的介导下形成基体,并和一个膜泡相结合开始生成纤毛。纤毛发生是一个

复杂的蛋白质和膜组装过程^[20-22]。首先,细胞由于血清饥饿或者接收到发育相关信号离开细胞周期,进入静息期,即G₀期^[23-25]。随后,来源于高尔基体(Golgi)或再循环内体(recycling endosome)的胞内小囊泡(即前纤毛小泡, pre-ciliary vesicles, PCVs)被分子马达蛋白Dync1h1、驱动蛋白KIFC1和肌球蛋白Myosin Va⁺沿着微管和微丝网络运输并锚定到母中心粒(mother centrioles)的末端附属物(distal appendage)上^[26-27]。在PCVs锚定后,膜成形蛋白(membrane shaping proteins)EHD1和EHD3被招募到PCVs,促使PCVs形成一个大的纤毛小泡(ciliary vesicle, CV),并覆盖住整个母中心粒的顶部^[28]。CV的形成伴随着中心粒从胞内向细胞膜的迁移以及中心粒向纤毛基体(basal bodies)的转变。在这个过程中,TTBK2(tau tubulin kinase 2)被末端附属物蛋白Cep164招募到母中心粒,将Cp110-Cep97蛋白质复合物从母中心粒的顶端移除,解除纤毛发生抑制^[29-31]。与此同时,IFT蛋白质复合物和小GTPase, Rab8和Rab11被招募到母中心粒分别参与纤毛轴丝和纤毛膜的组装和延伸^[32-37]。当带有CV的纤毛基体与细胞膜融合后,过渡区(transition zone)形成,轴丝往前延伸,形成纤毛的主体骨架^[38-42]。过渡区在电子显微镜下像很多圈项链一样围着轴丝,它将纤毛膜与细胞膜分隔开来,是各组分进出纤毛的门控装置^[43-44]。过渡区的蛋白失调将使纤毛内蛋白分布发生变化,直接影响纤毛结构、代谢和功能^[45]。

纤毛有动、静之分。动纤毛的轴丝多属于9+2型结构,即周围有9个双联体(一个双联体由一个完

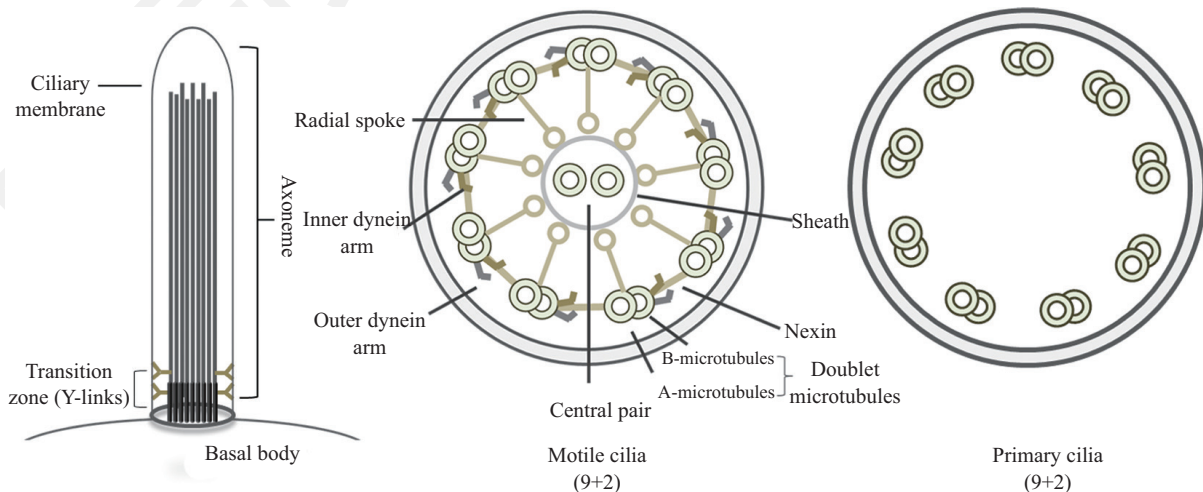


图2 纤毛的结构示意图

Fig.2 Structure of motile cilium and primary cilium

整的13条原丝的A-微管蛋白和一个不完整的10条原丝的B-微管蛋白构成, A-微管蛋白和B-微管蛋白共用5条原丝), 中间两个中央微管。周围的微管靠内外动力臂连接, 并通过轮辐结构关联中央微管, 为纤毛弯曲提供动力^[46]。人体呼吸道上皮细胞的纤毛就属于这种结构, 它们靠不断摆动把黏附了灰尘以及有害病菌的黏液送到鼻咽部排出。部分动纤毛的轴丝呈9+0型, 即没有中央微管, 但仍有内外动力臂为纤毛摆动提供动力。如与胚胎左-右形成密切相关的节点细胞上的纤毛, 它们在器官形成前集体向左倾斜并带动周围液体流动, 通过复杂的信号传递使胚胎发生不对称分裂^[16]。静纤毛的轴丝多属于9+0型结构, 没有动力臂蛋白, 因此没有摆动功能。大多数真核细胞表面的纤毛都属于这种类型。内脏细胞表面的纤毛通过感受体液中的物质变化来维持生命稳态, 使我们有健康的身体享受生活。听觉、视觉、嗅觉分别通过纤毛传递声波、光线、气味等信号^[47], 使我们感受到了五彩斑斓的世界。和听觉相关的内耳毛细胞上面的纤毛结构为特殊的9+2型, 有中央微管, 没有动力臂蛋白, 因此仍属于静纤毛。嗅觉上皮细胞等的纤毛结构在轴丝远端由双联体变为单联体结构, 与低等动物如线虫^[48]、果蝇^[49]等的神经细胞纤毛类似。由此也可以看出纤毛是一个在进化上高度保守的结构^[50]。

所有细胞的纤毛都可以看作是一细长的柱状物, 长度是描述纤毛外形的主要指标。纤毛的长度是其微管纵向排列的外在表现形式, 受到非常精准的调控^[51-52], 不同的细胞类型有着不同的纤毛长度, 而相同细胞的纤毛长度又极为接近。纤毛在细胞分裂间期组装生成, 在分裂期又解聚消失, 是细胞极性的产物^[53]。同时纤毛上不同位置有不同的蛋白, 参与多种信号传递。因此, 纤毛长度的变化可能会影响细胞极性和信号传递。然而对纤毛长度调控的具体机制仍有很多争议。

3 纤毛内转运蛋白及其运输机制

纤毛的组装和维持需要鞭毛内运输(intraflagellar transport, IFT)。IFT最早报道于1993年, Kozminski等^[54]在衣藻的鞭毛内部发现有颗粒状物质沿着微管轴丝流动, 这种物质流动具有方向性, 和鞭毛的左右摆动无关。他们把这种在纤毛内流动的物质称为IFT。之后IFT运输在线虫、哺乳动物细胞中均被观

测到, 被证实是存在于真核生物中极为保守的一种双向运输机制。

目前发现的IFT复合体包含20多种蛋白成分, 可分为IFT-A和IFT-B两个亚复合体, 它们通过BBS蛋白等连接形成一个大复合体^[55-56]。这个大复合体通过马达蛋白和轴丝相连, 就像运行在纤毛轴丝上的火车, 负责搬运多种货物, 如微管蛋白和部分受体分子等, 对维持纤毛结构和功能有着重要作用。

IFT运输机制可分为5部分: IFT蛋白的招募和组装、基部到顶端的正向运输(anterograde transport)、IFT的解聚和重新组装、顶端到基部的反向运输(retrograde transport)、IFT成分的再循环^[57]。

驱动蛋白(kinesin-II)和IFT-B负责正向运输, 当其中一个蛋白成分突变时, 细胞不能正常形成纤毛; 细胞质动力蛋白(cytoplasmic dynein)和IFT-A负责反向运输, 当其中一个蛋白突变时, 纤毛蛋白聚集在顶端不能被正常搬回。另外, IFT-A突变还会导致纤毛膜上的受体蛋白分布发生变化, 说明其对维持纤毛膜蛋白的正常功能起到关键作用^[58-59]。

通过高速显微镜, 我们可以实时跟踪纤毛内转运蛋白的运输。随着对IFT的深入研究, 科学家们发现, 不同细胞的纤毛内部正向运输和反向运输的速度是特异且恒定的。衣藻纤毛的正向运输速率约为2.5 $\mu\text{m/s}$, 反向运输速率约为4.0 $\mu\text{m/s}$ ^[60]。线虫纤毛的正向运输速率从0.7 $\mu\text{m/s}$ 逐渐增加至1.2 $\mu\text{m/s}$, 反向运输速率较为恒定, 约为1.3 $\mu\text{m/s}$ (图3)^[61]。哺乳动物细胞的纤毛内运输速率为0.2~1.2 $\mu\text{m/s}$ ^[62]。IFT运输速率改变可能会影响纤毛的长度, 而对纤毛功能的影响则鲜有报道。IFT为什么能保持如此精准的速率? 速率调控的背后是什么在起主要作用? IFT的调控机制一直是纤毛领域较为热门的研究方向之一。

目前对IFT运输机制的研究多在衣藻和线虫中进行。衣藻作为单细胞真核生物, 其简单的结构为纤毛研究提供了很多便利, 多个IFT蛋白都在衣藻纤毛中被首次发现, 并以其蛋白分子量直接命名, 如IFT52、IFT88等。线虫作为多细胞生物, 纤毛功能与哺乳动物更为相似, 且线虫几乎已有整个基因库的突变体, 基因编辑也相对简单, 可以对不同IFT标记上各种荧光蛋白进行活体实验。2005年, 研究人员发现, 线虫的纤毛有一套精细的IFT调控机制。在正向运输的近端, Kinesin-II和OSM-3共同搬运IFT-B和IFT-A, 在过了纤毛中段后Kinesin-II折回基部, 而

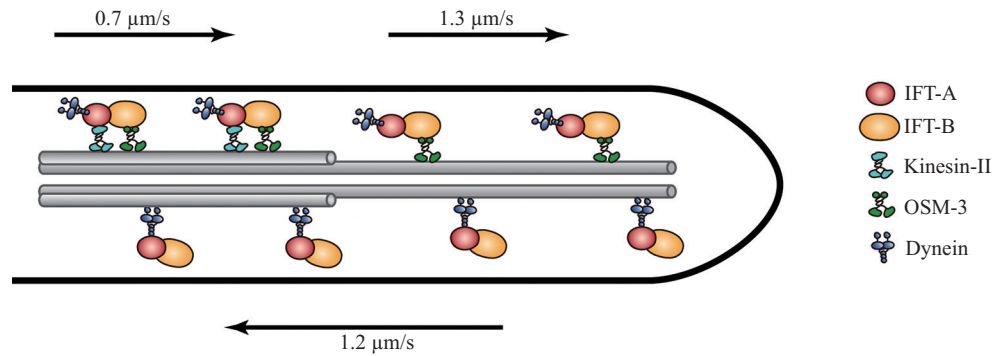


图3 线虫尾部神经纤毛中IFT运输机制示意图

Fig.3 Cartoon model of IFT movement in phanid cilia of *C. elegans*

OSM-3继续搬运IFT复合体,直到在末端时解离,由dynein搬运复合体开始反向运输。其中,OSM-3需要通过DYF-1和IFT-B蛋白结合才有驱动蛋白活性。DYF-1突变体线虫因为缺少有活性的OSM-3而只有前半段的纤毛^[63]。2018年Zeynep Ökten实验室^[64]通过体外重构蛋白复合体进一步验证了这个结果,并指出OSM-3的活化和运输速率与其相结合的蛋白复合体大小密切相关,复合体越大越完整,则OSM-3的速率越快。因IFT复合体成分众多,每一个成分的改变都会影响整个复合体的完整性。而驱动蛋白的活性又依赖于这个复合体,那么在体内IFT复合体之间如何组装连接,其复合体大小受什么影响就成了问题的关键,而这些都还有很多未知。

目前认为,影响IFT运输速率的因素还有钙离子浓度、cAMP浓度、微管蛋白的谷氨酰化修饰等。细胞中钙离子浓度降低或cAMP升高都会加快纤毛内IFT的运输,并使纤毛长度增加^[51]。钙离子和cAMP作为细胞的第二信使,在信号转导上也起重要作用。因此,纤毛内IFT的运输速率和细胞信号转导之间可能存在反馈机制。在线虫CEM纤毛中,微管蛋白去谷氨酰化酶CCPP-1突变体的OSM-3运输速率升高,而IFT-B的运输速率保持不变^[65]。CCPP-1突变体的纤毛微管结构受损,很多OSM-3分子不能正常与Kinesin-II或IFT复合体连接,因此速度反而变快。而Kinesin-II和IFT-B的分布不受影响。该研究指出,蛋白修饰会影响纤毛微管结构,进而影响部分纤毛蛋白的运输速率。然而微管作为蛋白运输的轨道,为什么其结构改变只影响部分蛋白运输?纤毛运输蛋白在微管上的分布是否具有特异性?这些都值得我们继续探讨。

目前对纤毛内转运蛋白的研究仍有很多空白。

它们具体能搬运哪些物质,运输速率为何会改变,其改变后会对细胞有什么影响,这都是未来亟待解决的问题。

4 纤毛的受体分布及相关信号通路

近年来,越来越多的研究表明,初级纤毛与细胞内信号传导密切相关,是细胞的“信号增强接收器”。纤毛可以感受诸如气味、光线、激素、离子浓度等多种信号,参与生物的整体发育生长过程。初级纤毛突出细胞表面,其纤毛膜上脂筏密集,分布着大量的受体和离子通道,包括血小板源性生长因子受体、生长抑素受体、5-羟色胺受体、Sonic Hedgehog和Wnt信号通路受体等^[66-67]。纤毛与细胞之间过渡区的存在使纤毛内具有不同的内环境,更有利于信号的快速传导。另外,纤毛体积非常小,可以迅速改变受体和下游效应物的浓度,从而快速响应环境变化并进一步调控细胞内的信号通路和新陈代谢。因此,纤毛作为细胞信号输入中枢的重要组成部分,对生命稳态的调控有着非常关键的作用。由纤毛介导的信号通路有许多,包括Sonic Hedgehog、Wnt、GPCR、Notch、Hippo、PDGF、mTOR、TGF-beta等(Wheway等^[68]在2018年发表了一篇很详尽的相关综述)。现简单介绍其中具有代表性的几条以展示纤毛在信号传导中的大致作用机制。

4.1 Sonic Hedgehog信号通路

Smo是Sonic Hedgehog信号通路的一员。在胚胎发育过程中,Sonic Hedgehog信号通路通过调控基因表达而使胚胎发生不对称分裂,以保证动物的组织和器官可以分布在正确的位置上。Sonic Hedgehog通路受阻会导致多趾症、神经管缺陷等疾病,而纤毛结构基因突变会导致Sonic Hedgehog信号通路

中断, 并产生相同的疾病。Sonic Hedgehog通路的受体蛋白PTCH1位于初级纤毛上时, Smo不能进入纤毛。此时转录因子Gli位于纤毛顶端, 处于失活状态, 信号通路被关闭(图4)。当Hedgehog蛋白与受体PTCH1结合后, PTCH1离开纤毛进入胞质, 而Smo离开胞质在纤毛上富集, 转录因子Gli被激活, 从纤毛顶端进入细胞核内, 诱导下游基因*PTCH1*、*Myc*、*Bcl-2*、*Wingless*等的表达^[66]。PTCH1作为受体, 参与该信号通路的反馈调节。*Wingless*是Wnt家族的一员, 参与Wnt信号通路^[69]。*Myc*、*Bcl-2*与细胞分裂分化相关, 也和肿瘤细胞增殖相关^[70]。另外, 有研究指出, 纤毛与细胞自噬相关, 且受Hedgehog通路调控^[71-72]。

纤毛的结构基因如*KIF7*或*IFT*突变都将导致Smo和Gli不能正确搬上或离开纤毛^[73-75]。值得注意的是, Smo在纤毛上的定位是Sonic Hedgehog通路激活所必须的, 但不是充分的。用药物处理使Smo在纤毛上富集并不能激活Sonic Hedgehog通路^[76]。纤毛对Hedgehog通路的调控非常重要, 而它具体如何调控这条信号通路还有很多未知。

4.2 Wnt信号通路

纤毛也参与调控Wnt信号通路。Wnt信号通路主要调控细胞发育和维持细胞稳态, 常可分为经典Wnt信号通路和非经典Wnt信号通路。纤毛和Wnt信号通路的相互作用关系目前尚存争议。一种说法是纤毛的异常可以激活经典Wnt信号通路。在HEK293T细胞和斑马鱼胚胎中, 当*BBS1*、*BBS4*、*MKKS*或*KIF3A*这些与纤毛生成密切相关的基因发生突变时, β -catenin将在细胞核中积聚并加强经典Wnt信号通路下游基因的转录^[77]。小鼠的纤毛

缺失突变体中也能观察到Wnt通路的激活。另外, β -catenin的核定位程度是多囊肾的一个常见指标, 而多囊肾是由纤毛缺陷引起的疾病^[78-79]。然而, *Ifi88*突变的小鼠虽然因为先天纤毛缺陷而出现多囊肾, 但并没有观察到Wnt信号通路的激活^[79]。与经典Wnt信号通路相反, 非经典Wnt信号通路通常认为在纤毛相关疾病中是被下调的。非经典Wnt信号通路又被称为PCP(planar cell polarity)信号通路, 和细胞极性调控密切相关。在动物发育过程中, PCP通路参与胚胎汇聚伸展、神经管封闭以及内耳成熟等重要过程。PCP通路相关基因与巴德-毕氏综合征(bardet-biedlsyndrome, BBS)蛋白复合体中几个纤毛相关蛋白有遗传互作现象, *BBS*基因缺陷会造成斑马鱼胚胎汇聚伸展障碍。在很多纤毛疾病如多囊肾中都出现PCP通路的抑制^[80]。同时, 纤毛的生成也受到PCP通路的调控。爪蟾Int和Fy蛋白缺失会抑制纤毛正常生长。PCP信号通路也会影响肌动蛋白重结构和纤毛内膜泡运输, 从而影响纤毛结构^[81]。

关于Wnt信号通路与纤毛之间的复杂的相互作用, 目前仍是纤毛研究的前沿热门领域。

4.3 GPCR信号通路

纤毛上受体多属于GPCR。神经细胞的纤毛上也有很多GPCR^[66]。它们和神经系统的发育和感知功能密切相关。在大脑发育过程中, 不同的GPCR被聚集到不同的神经细胞纤毛上^[67]。例如神经激肽受体(KISS1R)特异地分布在促性腺释放激素神经元的纤毛上, 纤毛突变会减少促性腺激素的释放^[82]。生长抑素受体3(SSTR3)通过Arl13b定位到神经元纤毛上, *Arl13b*突变将伴随神经发育缺陷, 如小脑发育不

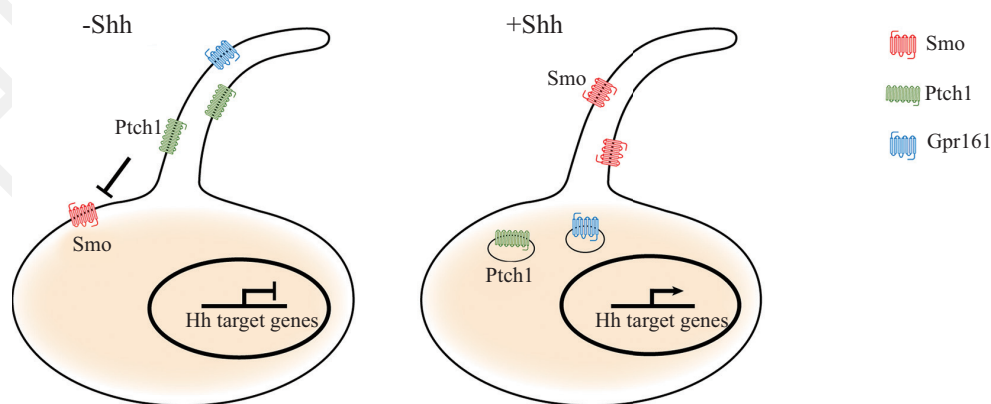


图4 Sonic Hedgehog受体蛋白在纤毛上的定位影响信号通路的关闭与激活(根据参考文献[66]修改)

Fig.4 The location receptor of Sonic Hedgehog on the primary cilium decides the on and off of the signalling (modified from reference [66])

全等^[68,83]。纤毛上的GPCR不仅在大脑神经细胞中发挥重要作用,在视神经等感官神经元中也有不可缺失的作用。感光物质视紫红质也是GPCR的一种,它们吸收光线并通过视神经中的纤毛传递电子信号。纤毛基因突变将导致视网膜缺陷^[68]。

IFT是纤毛生成所必需的,IFT突变会导致纤毛缺陷,从而使GPCR不能正确定位到纤毛上。然而大家对GPCR是否通过IFT直接搬运到纤毛上仍有争议。目前认为,部分GPCR通过扩散分布在纤毛膜上^[67],部分GPCR与BBS相连^[84-85],也有部分依靠Tubby与IFT-A的相互作用被搬运到纤毛上。Tubby或IFT-A突变会导致GPCR不能正确定位到纤毛上^[58]。GPCR通过什么机制被选择性地运输到纤毛上,GPCR在纤毛上的定位受哪些因素影响,这些都是未来需要解决的问题。

5 纤毛与外泌体之间的研究

纤毛不仅是细胞的“信号接收器”,还可以是细胞的“信号发射器”。自1946年Chargaff实验室^[86]在血液中分离得到一种细胞外囊泡以来,这个游离于体液里的小泡被证明携带多种DNA、RNA、蛋白等物质^[87]。1987年Johnstone^[88]将其命名为“外泌体”(exosome)。目前对外泌体的定义尚有争议,这里指的外泌体为广义上的外泌体,即细胞外囊泡。越来越多的研究指出,外泌体是作用于细胞-细胞间远距离交流的重要介质。近年来研究发现,除了细胞本身会分泌外泌体,纤毛也可以分泌外泌体。

在衣藻中,鞭毛是暴露于细胞外环境的唯一膜结构。衣藻通过鞭毛膜顶端的胞吐作用向外释放细胞外囊泡。囊泡中包裹有蛋白水解酶,起到降解母细胞壁从而释放子细胞的作用^[89]。在哺乳动物和线虫中,也在纤毛附近观察到囊泡结构,这些囊泡内含有纤毛特异性蛋白,如LOV-1和PKD-2蛋白等。目前认为,线虫纤毛分泌的囊泡可能与信息交流有关^[90]。不能分泌外泌体的线虫突变体有交配缺陷。而在线虫培养基中加入外源外泌体后能增加雄虫的摆尾次数,说明这些外泌体中包含有与交配信息交流相关的物质。

纤毛产生外泌体的方式可能与细胞不同。衣藻纤毛通过顶端胞吐作用产生外泌体^[91-92],而这一分泌方式的进化保守性仍需进一步确认。在线虫中,纤毛的外泌体可能也通过出芽等方式在纤毛基部产生^[90]。针对纤毛具体通过什么机制产生外泌体的研究目前还比较少。2017年,Nager等^[93]发现,在细胞

中当GPCR不能通过纤毛内反向运输搬回细胞时,它们会集中到纤毛膜的顶端,并通过肌动蛋白(actin)、肌动蛋白调节剂(drebrin)和肌球蛋白(myosin6)共同介导的囊泡分泌从纤毛顶端排出细胞。如果纤毛上的反向运输和外泌体合成均受到破坏,则Hedgehog通路不能被激活。然而,这种由纤毛分泌的囊泡对信号转导功能的重要性仍然有争议。另外,也有报道指出,纤毛外泌体会携带需要降解的物质排出细胞^[89]。

越来越多对外泌体的研究显示,这些细胞外囊泡对细胞远距离交流和跨组织调控有重要意义^[94]。纤毛通过什么途径分泌囊泡,这些囊泡内有什么物质,其与细胞外泌体之间有何相似性和不同,这些都是很有意思的问题。

6 纤毛与疾病、衰老之间的关系

纤毛作为细胞的“天线”,在生物发育和生长过程中都发挥重要作用。纤毛缺陷常导致多种疾病,如巴比二氏综合征(bardet-biedl syndrome, BBS)、脑发育不良综合征(meckel-gruber syndrome, MKS)、多囊肾综合征(polycystic kidney disease, PKD)、骨质疏松症等^[68]。

第一个被发现的纤毛疾病是原发性纤毛运动障碍(primary ciliary dyskinesia, PCD),它是由动纤毛缺陷引起的,患者常伴有慢性支气管炎和鼻窦炎等^[95]。因为呼吸道纤毛无法摆动,患者不能正常清除黏附了灰尘以及有害病菌的黏液,从而引起呼吸系统疾病。由于胚胎发育时期节点纤毛的运动功能受损导致,几乎一半的患者有内脏转位。此外,原发性纤毛运动障碍患者患脑积水、不孕不育的概率也大大增加。

多囊肾综合征(PKD)是研究最多的初级纤毛疾病之一。多数患者在幼年时肾脏正常,到中年时逐渐出现肾囊肿,且囊肿数量随年龄增多,伴有两侧肾肿大、肾区疼痛、血尿等症状。多囊肾与肾脏纤毛缺陷相关。肾脏纤毛由肾小管上皮细胞伸入肾小管腔,与尿液直接接触,是感受液体流动的机械感受器。正常情况下,肾脏纤毛在尿流的刺激下打开离子通道,使细胞钙离子内流增加,抑制Wnt信号通路,维持细胞稳态。纤毛结构异常将导致细胞内钙离子紊乱,Wnt信号通路激活,细胞分裂增加,形成肾囊肿^[96]。

人类的听觉、视觉、嗅觉这三大感知功能也都离不开纤毛。视网膜色素变性蛋白1(retinitis pig-

mentosa-1, RP-1)、视网膜色素变性G蛋白调控因子(retinitis pigmentosa GTPase regulator, RPGR)以及RPGR结合蛋白(retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein, RPGR-IP)都位于光感受器中特异化的纤毛或纤毛基体中^[97]。纤毛的缺陷会导致光感受器细胞外段中的视色素蛋白不能得到及时补充,使视力下降乃至失明。人的嗅觉依赖于嗅觉神经末端的纤毛,嗅觉纤毛的缺陷可导致嗅觉丧失。BBS患者常患有不同程度的嗅觉丧失^[98]。

纤毛与癌症的关系近年来也越来越受到人们关注。纤毛参与细胞周期调控,是细胞极性的产物。而肿瘤细胞往往处于高度分裂状态,正常的细胞周期被破坏。很长一段时间以来人们都认为,纤毛缺陷将是引起肿瘤细胞的重要原因。然而对此的相关证据都只来源于体外实验。并不是患有纤毛疾病的人都会罹患癌症。纤毛和癌症之间的关系可能比人们想象得更加复杂。有研究提示,纤毛丢失在肿瘤代谢及细胞转化中起着重要作用^[99-100]。在多种肿瘤病人的组织细胞中出现纤毛丢失。在胰腺癌中,纤毛丢失程度与转化后细胞的恶性程度直接相关。尽管纤毛丢失本身不足以引发癌症,但细胞在纤毛丢失后对癌基因变得更加敏感,从而加速细胞转化^[101]。与之相反的是,在恶性胶质瘤中,那些增殖扩散更快的细胞反而长有纤毛,且这些细胞对化疗不敏感^[102]。*Kif3A*是纤毛生成的重要结构基因,低表达*Kif3A*不仅抑制了纤毛生长,也抑制了成神经管细胞瘤生长^[103]。因此,纤毛和肿瘤之间的调控关系可能存在多种机制。

随着年龄的增长,人们罹患各种慢性病的风险增加,这其中包括很多纤毛缺陷引起的疾病。香港玛丽医院曾对11~90岁人群的鼻黏膜纤毛进行研究,发现随着年龄增长,纤毛的摆动频率降低,纤毛微管结构出现紊乱的概率增加^[104]。这大概解释了为什么65岁以上老人更容易患肺炎。我们知道呼吸道黏膜纤毛通过摆动将黏附了病菌和灰尘的黏液排出体内,而纤毛摆动频率下降将导致更多异物进入肺部,这使肺部感染的可能性增加。另外,老年人稍有不慎就会关节受损,或者患上骨关节炎。这和衰老过程中细胞表面纤毛介导的ERK信号通路被抑制,导致软骨细胞生成减少相关^[105]。

在线虫中,纤毛位于感觉神经元树突的顶端,是感受外界信号(如盐浓度、渗透压等)的重要结构,

担负着线虫的视觉和嗅觉等功能。线虫的IFT基因突变后,纤毛结构发生缺陷,而线虫的寿命反而得到延长^[106]。这与哺乳动物中纤毛缺陷导致多种疾病的现象有所矛盾。当时的研究初步提出了纤毛调控寿命的两种可能途径。(1)IFT可能影响了体细胞生殖腺对寿命的调控:去掉生殖系统中的体细胞生殖腺不能延长纤毛缺陷线虫的寿命(野生型中去掉体细胞生殖腺能延长寿命);(2)IFT可能影响了胰岛素信号通路:纤毛缺陷会缩短*daf-2*突变体的寿命,同时纤毛缺陷所导致的寿命延长又依赖于*daf-16/FOXO*。另外,有研究报道,IFT突变能增强线虫免疫力从而延长寿命,并且IFT-A和IFT-B可能通过不同的作用机制来调控寿命^[107]。

然而纤毛作为一个高度保守的结构,为什么其在线虫中的突变会和哺乳动物有截然不同的结果?一个可能的原因是纤毛在哺乳动物中广泛存在于各个组织细胞,且有些在发育中就发挥重要作用。正是由于纤毛有高度保守的结构,纤毛结构基因突变往往导致几乎所有细胞的初级纤毛和动纤毛都发生缺陷,并使动物出生致死或有严重疾病。而线虫只有初级纤毛,且纤毛只位于神经系统中。纤毛缺失会导致线虫丧失部分感受外界刺激的能力,但并不会导致线虫发育缺陷或代谢紊乱。那么为什么丧失感觉能力的线虫能获得长寿?神经细胞上的纤毛是否还有其他生理作用?纤毛在线虫的感觉能力和寿命之间扮演着什么样的角色?这都是十分有意义的科学问题。

7 展望

几乎所有真核细胞表面都保留有初级纤毛,它是一个高度保守、受精密调控的细胞器。纤毛上富集了多种重要信号通路的受体,纤毛缺陷将导致一系列疾病。虽然纤毛的发现很早,但是对纤毛的研究起步很晚。我们对这样一个保守而复杂的细胞器知道的只有冰山一角,这给纤毛疾病的预防和治疗带来了很大障碍。纤毛虽然很小,但其内部无论是IFT运输机制的调控还是信号通路的调控都有很多物质参与,且纤毛与细胞胞质间有非常频繁的信息交流。因此,对纤毛的研究不仅要阐释清楚它的自我调控机制,还要与细胞、生物整体相联系,阐明纤毛对疾病、对寿命的调节方式。而正因为这些都还有很多未知,纤毛研究才更具有吸引力。对纤毛的进一步了解无疑将有助于加深我们对生命调控方式

的理解, 也能为纤毛疾病的治疗带来新的思路, 帮助人们享有更健康的生活。

参考文献 (References)

- 1 Dobell C. Antony van Leeuwenhoek and his "Little Animals": being some account of the father of protozoology and bacteriology and his multifarious discoveries in these disciplines. *Nature* 1932; 130(3288): 679-80.
- 2 Joblot L. Description et usages de plusieurs nouveaux microscopes, tant simple que composez (in French). Paris: Jacques Collombat 1718; 79-8.
- 3 Woodruff LL. The structure, life history, and intrageneric relationships of paramecium calkinsi. *Biol Bull* 1921; 41(3): 171-80.
- 4 Rosenbaum JL, Witman GB. Intraflagellar transport. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3(11): 813-25.
- 5 Weise L, Wiese W. Sex cell contact in *Chlamydomonas*, a model for cell recognition. *Symp Soc Exp Biol* 1978; 32: 83-103.
- 6 Harris EH. The *Chlamydomonas* sourcebook. In: Harris EH, Stern DB, Witman GB, eds. *The Chlamydomonas Sourcebook*, 2nd ed. London: Academic Press, 2009: 1-24.
- 7 Bray D. *Cell movements: from molecules to motility*. 2nd ed. New York: Garland Science, 2000: 13-5.
- 8 Silflow CD, Lefebvre PA. Assembly and motility of eukaryotic cilia and flagella. Lessons from *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol* 2001; 127(4): 1500-7.
- 9 Raven PH ER, Eichhorn SE. *Biology of Plants*. 6th ed. New York: W.H. Freeman, 1999: 60-2.
- 10 Zimmermann KW. Beitrage zur kenntniss einiger drusen und epithelien. *Archiv fur Mikroskopische Anatomie* 1898; 52(3): 552-706.
- 11 Sorokin SP. Reconstructions of centriole formation and ciliogenesis in mammalian lungs. *J Cell Sci* 1968; 3(2): 207-30.
- 12 Higuchi S, Sugahara F, Pascual-Anaya J, Takagi W, Oisi Y, Kuratani S. Inner ear development in cyclostomes and evolution of the vertebrate semicircular canals. *Nature* 2019; 565(7739): 347-50.
- 13 Acevedo C, Blanchard K, Bacigalupo J, Vergara C. Possible ATP trafficking by ATP-shuttles in the olfactory cilia and glucose transfer across the olfactory mucosa. *FEBS Lett* 2019; 593(6): 601-10.
- 14 Chadha A, Volland S, Baliaouri NV, Tran EM, Williams DS. The route of the visual receptor, rhodopsin, along the cilium. *J Cell Sci* 2019; 132(10): jcs229526.
- 15 Ward S. Chemotaxis by the nematode *Caenorhabditis elegans*: identification of attractants and analysis of the response by use of mutants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70(3): 817-21.
- 16 Supp DM, Witte DP, Potter SS, Brueckner M. Mutation of an axonemal dynein affects left-right asymmetry in *inversus* viscerum mice. *Nature* 1997; 389(6654): 963-6.
- 17 Pazour GJ, Dickert BL, Vucica Y, Seeley ES, Rosenbaum JL, Witman GB, *et al.* *Chlamydomonas* IFT88 and its mouse homologue, polycystic kidney disease gene *tg737*, are required for assembly of cilia and flagella. *J Cell Biol* 2000; 151(3): 709-18.
- 18 Singla V, Reiter JF. The primary cilium as the cell's antenna: signaling at a sensory organelle. *Science* 2006; 313(5787): 629-33.
- 19 Nigg EA, Stearns T. The centrosome cycle: centriole biogenesis, duplication and inherent asymmetries. *Nat Cell Biol* 2011; 13(10): 1154-60.
- 20 Wang L, Dynlacht BD. The regulation of cilium assembly and disassembly in development and disease. *Development* 2018; 145(18): dev151407.
- 21 Nishimura Y, Kasahara K, Shiromizu T, Watanabe M, Inagaki M. Primary cilia as signaling hubs in health and disease. *Adv Sci (Weinh)* 2018; 6(1): 1801138.
- 22 Werner S, Pimenta-Marques A, Bettencourt-Dias M. Maintaining centrosomes and cilia. *J Cell Sci* 2017; 130(22): 3789-800.
- 23 Aughtsteen AA. The ultrastructure of primary cilia in the endocrine and excretory duct cells of the pancreas of mice and rats. *Eur J Morphol* 2001; 39(5): 277-83.
- 24 Cao J, Shen Y, Zhu L, Xu Y, Zhou Y, Wu Z, *et al.* miR-129-3p controls cilia assembly by regulating CP110 and actin dynamics. *Nat Cell Biol* 2012; 14(7): 697-706.
- 25 Tucker RW, Pardee AB, Fujiwara K. Centriole ciliation is related to quiescence and DNA synthesis in 3T3 cells. *Cell* 1979; 17(3): 527-35.
- 26 Lee SH, Joo K, Jung EJ, Hong H, Seo J, Kim J. Export of membrane proteins from the Golgi complex to the primary cilium requires the kinesin motor, KIF1C. *FASEB J* 2018; 32(2): 957-68.
- 27 Wu CT, Chen HY, Tang TK. Myosin-Va is required for preciliary vesicle transportation to the mother centriole during ciliogenesis. *Nat Cell Biol* 2018; 20(2): 175-85.
- 28 Lu Q, Insinna C, Ott C, Stauffer J, Pintado PA, Rahajeng J, *et al.* Early steps in primary cilium assembly require EHD1/EHD3-dependent ciliary vesicle formation. *Nat Cell Biol* 2015; 17(3): 531.
- 29 Cajanek L, Nigg EA. Cep164 triggers ciliogenesis by recruiting Tau tubulin kinase 2 to the mother centriole. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(28): E2841-50.
- 30 Goetz SC, Liem KF, Jr., Anderson KV. The spinocerebellar ataxia-associated gene Tau tubulin kinase 2 controls the initiation of ciliogenesis. *Cell* 2012; 151(4): 847-58.
- 31 Spektor A, Tsang WY, Khoo D, Dynlacht BD. Cep97 and CP110 suppress a cilia assembly program. *Cell* 2007; 130(4): 678-90.
- 32 Westlake CJ, Baye LM, Nachury MV, Wright KJ, Ervin KE, Phu L, *et al.* Primary cilia membrane assembly is initiated by Rab11 and transport protein particle II (TRAPP) complex-dependent trafficking of Rabin8 to the centrosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(7): 2759-64.
- 33 Nachury MV, Loktev AV, Zhang Q, Westlake CJ, Peranen J, Merdes A, *et al.* A core complex of BBS proteins cooperates with the GTPase Rab8 to promote ciliary membrane biogenesis. *Cell* 2007; 129(6): 1201-13.
- 34 Absalon S, Blisnick T, Kohl L, Toutirais G, Dore G, Julkowska D, *et al.* Intraflagellar transport and functional analysis of genes required for flagellum formation in trypanosomes. *Mol Biol Cell* 2008; 19(3): 929-44.
- 35 Ishikawa H, Marshall WF. Intraflagellar transport and ciliary dynamics. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2017; 9(3): a021998.
- 36 Kanie T, Abbott KL, Mooney NA, Plowey ED, Demeter J, Jackson PK. The CEP19-RABL2 GTPase complex binds IFT-B to initiate intraflagellar transport at the ciliary base. *Dev Cell* 2017; 42(1): 22-36.e12.

- 37 Scheidel N, Blacque OE. Intraflagellar transport complex genes differentially regulate cilium formation and transition zone gating. *Curr Biol* 2018; 28(20): 3279-87, e2.
- 38 Li W, Yi P, Zhu Z, Zhang X, Li W, Ou G. Centriole translocation and degeneration during ciliogenesis in *Caenorhabditis elegans* neurons. *EMBO J* 2017; 36(17): 2553-66.
- 39 Nechipurenko IV, Berciu C, Sengupta P, Nicastro D. Centriolar remodeling underlies basal body maturation during ciliogenesis in *Caenorhabditis elegans*. *Elife* 2017; 6: e25686.
- 40 Goncalves J, Pelletier L. The ciliary transition zone: finding the pieces and assembling the gate. *Mol Cells* 2017; 40(4): 243-53.
- 41 Garcia-Gonzalo FR, Reiter JF. Open sesame: how transition fibers and the transition zone control ciliary composition. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2017; 9(2): a028134.
- 42 Shi X, Garcia G, 3rd, Van De Weghe JC, McGorty R, Pazour GJ, Doherty D, *et al.* Super-resolution microscopy reveals that disruption of ciliary transition-zone architecture causes Joubert syndrome. *Nat Cell Biol* 2017; 19(10): 1178-88.
- 43 Reiter JF, Blacque OE, Leroux MR. The base of the cilium: roles for transition fibres and the transition zone in ciliary formation, maintenance and compartmentalization. *EMBO Rep* 2012; 13(7): 608-18.
- 44 Jana SC, Mendonca S, Machado P, Werner S, Rocha J, Pereira A, *et al.* Differential regulation of transition zone and centriole proteins contributes to ciliary base diversity. *Nat Cell Biol* 2018; 20(8): 928-41.
- 45 Garcia-Gonzalo FR, Reiter JF. Open sesame: how transition fibers and the transition zone control ciliary composition. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2017; 9(2): a028134.
- 46 Satir P, Heuser T, Sale WS. A structural basis for how motile cilia beat. *Bioscience* 2014; 64(12): 1073-83.
- 47 Bloodgood RA. Sensory reception is an attribute of both primary cilia and motile cilia. *J Cell Sci* 2010; 123(Pt 4): 505-9.
- 48 Ward S, Thomson N, White JG, Brenner S. Electron microscopical reconstruction of the anterior sensory anatomy of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J Comp Neurol* 1975; 160(3): 313-37.
- 49 Shanbhag SR, Muller B, Steinbrecht RA. Atlas of olfactory organs of *Drosophila melanogaster* 2. Internal organization and cellular architecture of olfactory sensilla. *Arthropod Struct Dev* 2000; 29(3): 211-29.
- 50 Khan S, Scholey JM. Assembly, Functions and evolution of archaella, flagella and cilia. *Curr Biol* 2018; 28(6): R278-92.
- 51 Besschetnova TY, Kolpakova-Hart E, Guan Y, Zhou J, Olsen BR, Shah JV. Identification of signaling pathways regulating primary cilium length and flow-mediated adaptation. *Curr Biol* 2010; 20(2): 182-7.
- 52 Novas R, Cardenas-Rodriguez M, Lepanto P, Fabregat M, Rodao M, Fariello MI, *et al.* Kinesin 1 regulates cilia length through an interaction with the Bardet-Biedl syndrome related protein CCDC28B. *Sci Rep* 2018; 8(1): 3019.
- 53 Bornens M. Cell polarity: having and making sense of direction on the evolutionary significance of the primary cilium/centrosome organ in Metazoa. *Open Biol* 2018; 8(8): 180052.
- 54 Kozminski KG, Johnson KA, Forscher P, Rosenbaum JL. A motility in the eukaryotic flagellum unrelated to flagellar beating. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(12): 5519-23.
- 55 Lechtreck KF. IFT-cargo interactions and protein transport in cilia. *Trends Biochem Sci* 2015; 40(12): 765-78.
- 56 Wingfield JL, Lechtreck KF, Lorentzen E. Trafficking of ciliary membrane proteins by the intraflagellar transport/BBSome machinery. *Essays Biochem* 2018; 62(6): 753-63.
- 57 Nakayama K, Katoh Y. Ciliary protein trafficking mediated by IFT and BBSome complexes with the aid of kinesin-2 and dynein-2 motors. *J Biochem* 2018; 163(3): 155-64.
- 58 Mukhopadhyay S, Wen X, Chih B, Nelson CD, Lane WS, Scales SJ, *et al.* TULP3 bridges the IFT-A complex and membrane phosphoinositides to promote trafficking of G protein-coupled receptors into primary cilia. *Genes Dev* 2010; 24(19): 2180-93.
- 59 Picariello T, Brown JM, Hou YQ, Swank G, Cochran DA, King OD, *et al.* A global analysis of IFT-A function reveals specialization for transport of membrane-associated proteins into cilia. *J Cell Sci* 2019; 132(3): jcs220749.
- 60 Craft JM, Harris JA, Hyman S, Kner P, Lechtreck KF. Tubulin transport by IFT is upregulated during ciliary growth by a cilium-autonomous mechanism. *J Cell Biol* 2015; 208(2): 223-37.
- 61 Prevo B, Mangeol P, Oswald F, Scholey JM, Peterman EJ. Functional differentiation of cooperating kinesin-2 motors orchestrates cargo import and transport in *C. elegans* cilia. *Nat Cell Biol* 2015; 17(12): 1536-45.
- 62 Williams CL, McIntyre JC, Norris SR, Jenkins PM, Zhang L, Pei Q, *et al.* Direct evidence for BBSome-associated intraflagellar transport reveals distinct properties of native mammalian cilia. *Nat Commun* 2014; 5: 5813.
- 63 Ou G, Blacque OE, Snow JJ, Leroux MR, Scholey JM. Functional coordination of intraflagellar transport motors. *Nature* 2005; 436(7050): 583-7.
- 64 Mohamed MAA, Stepp WL, Okten Z. Reconstitution reveals motor activation for intraflagellar transport. *Nature* 2018; 557(7705): 387-91.
- 65 O'Hagan R, Piasecki BP, Silva M, Phirke P, Nguyen KC, Hall DH, *et al.* The tubulin deglutamylase CCPP-1 regulates the function and stability of sensory cilia in *C. elegans*. *Curr Biol* 2011; 21(20): 1685-94.
- 66 Hilgendorf KI, Johnson CT, Jackson PK. The primary cilium as a cellular receiver: organizing ciliary GPCR signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2016; 39: 84-92.
- 67 Mykytyn K, Askwith C. G-protein-coupled receptor signaling in cilia. *Csh Perspect Biol* 2017; 9(9): a028183.
- 68 Wheway G, Nazlamova L, Hancock JT. Signaling through the primary cilium. *Front Cell Dev Biol* 2018; 6: 8.
- 69 Adams JM, Cory S. The BCL-2 arbiters of apoptosis and their growing role as cancer targets. *Cell Death Differ* 2018; 25(1): 27-36.
- 70 Hatton BA, Knoepfler PS, Kenney AM, Rowitch DH, de Alboran IM, Olson JM, *et al.* N-myc is an essential downstream effector of Shh signaling during both normal and neoplastic cerebellar growth. *Cancer Res* 2006; 66(17): 8655-61.
- 71 Pampliega O, Orhon I, Patel B, Sridhar S, Diaz-Carretero A, Beau I, *et al.* Functional interaction between autophagy and ciliogenesis. *Nature* 2013; 502(7470): 194-200.
- 72 Avalos Y, Pena-Oyarzun D, Budini M, Morselli E, Criollo A. New roles of the primary cilium in autophagy. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 4367019.

- 73 Spassky N, Han YG, Aguilar A, Strehl L, Besse L, Laclef C, *et al.* Primary cilia are required for cerebellar development and Shh-dependent expansion of progenitor pool. *Dev Biol* 2008; 317(1): 246-59.
- 74 He M, Agbu S, Anderson KV. Microtubule motors drive hedgehog signaling in primary cilia. *Trends Cell Biol* 2017; 27(2): 110-25.
- 75 Reilly ML, Benmerah A. Ciliary kinesins beyond IFT: Cilium length, disassembly, cargo transport and signalling. *Biol Cell* 2019; 111(4): 79-94.
- 76 Ocbina PJR, Eggenschwiler JT, Moskowitz I, Anderson KV. Complex interactions between genes controlling trafficking in primary cilia. *Nat Genet* 2011; 43(6): 547-U75.
- 77 Gerdes JM, Liu Y, Zaghoul NA, Leitch CC, Lawson SS, Kato M, *et al.* Disruption of the basal body compromises proteasomal function and perturbs intracellular Wnt response. *Nat Genet* 2007; 39(11): 1350-60.
- 78 Saadi-Kheddouci S, Berrebi D, Romagnolo B, Cluzeaud F, Peuchmaur M, Kahn A, *et al.* Early development of polycystic kidney disease in transgenic mice expressing an activated mutant of the beta-catenin gene. *Oncogene* 2001; 20(42): 5972-81.
- 79 Bryja V, Cervenka I, Cajanek L. The connections of Wnt pathway components with cell cycle and centrosome: side effects or a hidden logic? *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2017; 52(6): 614-37.
- 80 Wallingford JB, Mitchell B. Strange as it may seem: the many links between Wnt signaling, planar cell polarity, and cilia. *Genes Dev* 2011; 25(3): 201-13.
- 81 Kunimoto K, Bayly RD, Vldar EK, Vonderfecht T, Gallagher AR, Axelrod JD. Disruption of core planar cell polarity signaling regulates renal tubule morphogenesis but is not cystogenic. *Curr Biol* 2017; 27(20): 3120-31,e4.
- 82 Koemeter-Cox AI, Sherwood TW, Green JA, Steiner RA, Berbari NF, Yoder BK, *et al.* Primary cilia enhance kisspeptin receptor signaling on gonadotropin-releasing hormone neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(28): 10335-40.
- 83 Handel M, Schulz S, Stanarius A, Schreff M, Erdtmann-Vourliotis M, Schmidt H, *et al.* Selective targeting of somatostatin receptor 3 to neuronal cilia. *Neuroscience* 1999; 89(3): 909-26.
- 84 Domire JS, Green JA, Lee KG, Johnson AD, Askwith CC, Mykityn K. Dopamine receptor 1 localizes to neuronal cilia in a dynamic process that requires the Bardet-Biedl syndrome proteins. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68(17): 2951-60.
- 85 Nozaki S, Katoh Y, Kobayashi T, Nakayama K. BBS1 is involved in retrograde trafficking of ciliary GPCRs in the context of the BBSome complex. *PLoS One* 2018; 13(3): e0195005.
- 86 Chargaff E, West R. The biological significance of the thrombolytic protein of blood. *J Biol Chem* 1946; 166(1): 189-97.
- 87 Mathivanan S, Ji H, Simpson RJ. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics* 2010; 73(10): 1907-20.
- 88 Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, Orr L, Turbide C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem* 1987; 262(19): 9412-20.
- 89 Wood CR, Rosenbaum JL. Ciliary ectosomes: transmissions from the cell's antenna. *Trends Cell Biol* 2015; 25(5): 276-85.
- 90 Wang J, Silva M, Haas LA, Morsci NS, Nguyen KC, Hall DH, *et al.* *C. elegans* ciliated sensory neurons release extracellular vesicles that function in animal communication. *Curr Biol* 2014; 24(5): 519-25.
- 91 Wood CR, Huang K, Diener DR, Rosenbaum JL. The cilium secretes bioactive ectosomes. *Curr Biol* 2013; 23(10): 906-11.
- 92 Wang J, Barr MM. Cell-cell communication via ciliary extracellular vesicles: clues from model systems. *Essays Biochem* 2018; 62(2): 205-13.
- 93 Nager AR, Goldstein JS, Herranz-Perez V, Portran D, Ye F, Garcia-Verdugo JM, *et al.* An actin network dispatches ciliary GPCRs into extracellular vesicles to modulate signaling. *Cell* 2017; 168(1/2): 252-63,e14.
- 94 Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell* 2016; 164(6): 1226-32.
- 95 Horani A, Ferkol TW, Dutcher SK, Brody SL. Genetics and biology of primary ciliary dyskinesia. *Paediatr Respir Rev* 2016; 18: 18-24.
- 96 Basten SG, Giles RH. Functional aspects of primary cilia in signaling, cell cycle and tumorigenesis. *Cilia* 2013; 2(1): 6.
- 97 Khanna H, Davis EE, Murga-Zamalloa CA, Estrada-Cuzcano A, Lopez I, den Hollander AI, *et al.* A common allele in RPGRIP1L is a modifier of retinal degeneration in ciliopathies. *Nat Genet* 2009; 41(6): 739-45.
- 98 Reiter JF, Leroux MR. Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017; 18(9): 533-47.
- 99 Hjortshoj TD, Gronskov K, Rosenberg T, Brondum-Nielsen K, Olsen JH. Risk for cancer in patients with Bardet-Biedl syndrome and their relatives. *Am J Med Genet A* 2007; 143A(15): 1699-702.
- 100 Lee J, Yi S, Chang JY, Kim JT, Sul HJ, Park KC, *et al.* Loss of primary cilia results in the development of cancer in the murine thyroid gland. *Mol Cells* 2019; 42(2): 113-22.
- 101 Deng YZ, Cai Z, Shi S, Jiang H, Shang YR, Ma N, *et al.* Cilia loss sensitizes cells to transformation by activating the mevalonate pathway. *J Exp Med* 2018; 215(1): 177-95.
- 102 Sarkisian MR, Siebzehnrubl D, Hoang-Minh L, Deleyrolle L, Silver DJ, Siebzehnrubl FA, *et al.* Detection of primary cilia in human glioblastoma. *J Neurooncol* 2014; 117(1): 15-24.
- 103 Barakat MT, Humke EW, Scott MP. Kif3a is necessary for initiation and maintenance of medulloblastoma. *Carcinogenesis* 2013; 34(6): 1382-92.
- 104 Ho JC, Chan KN, Hu WH, Lam WK, Zheng L, Tipoe GL, *et al.* The effect of aging on nasal mucociliary clearance, beat frequency, and ultrastructure of respiratory cilia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(4): 983-8.
- 105 Jorgensen AEM, Kjaer M, Heinemeier KM. The effect of aging and mechanical loading on the metabolism of articular cartilage. *J Rheumatol* 2017; 44(4): 410-7.
- 106 Apfeld J, Kenyon C. Regulation of lifespan by sensory perception in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1999; 402(6763): 804-9.
- 107 Gaglia MM, Jeong DE, Ryu EA, Lee D, Kenyon C, Lee SJ. Genes that act downstream of sensory neurons to influence longevity, dauer formation, and pathogen responses in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet* 2012; 8(12): e1003133.