

[文章编号] 1007-385X(2002)03-

Notch 的结构和信号转导

齐润姿 综述, 曹雪涛 审阅(第二军医大学免疫学研究所, 上海 200433)

[摘要] Notch 蛋白是一个进化上保守的跨膜受体家族。广泛分布和表达在多种组织中, Notch 受体的结构特点决定了 Notch 可通过一条特殊的信号级联途径转导信号。影响细胞决定和分化发育, 尤其是胚胎的发育过程中 Notch 信号途径更是不可缺的。Notch 信号转导本身是个复杂的过程, 同时, 还能在多种水平被调节。

[关键词] Notch; 跨膜受体; 信号转导; 分化; 发育

[中图分类号] Q786 [文献标识码] A

Notch 最初发现于果蝇。随后, 大量的研究表明 Notch 广泛表达于从无脊椎动物到哺乳动物等多个物种。由于 Notch 在细胞分化及个体发育中起决定性作用, 因此, 近年来 Notch 成为发育学、细胞生物学、免疫学、血液学、肿瘤学等多个领域的研究热点之一, 本文就 Notch 的结构和信号转导途径的研究历史、现状及进展作一回顾。

1 Notch 家族成员及其分布

Notch 基因发现于 1919 年, Notch 功能缺陷可导致果蝇翅膀出现缺口^[1]。目前已经在果蝇、线虫、爪蟾属、斑马鱼、鸡、小鼠和人体细胞中分离出 Notch 的同源体。在各物种之间, Notch 家族成员的结构具有高度的保守性, 提示 Notch 功能存在进化上的保守性。在脊椎动物中, 共发现了 4 个 Notch 同源体, 包括 Notch1 (Tan1), Notch2, Notch3 和 Notch4 (int3)。其中 Notch1, 2, 3 可以在许多组织器官中表达, 包括中枢神经系统、中胚层、胰腺、造血细胞、毛发、牙齿和肾脏等。而 Notch4 的表达则局限于成熟的巨噬细胞、胰腺和上皮细胞^[2]。如(表 1)所示, Notch 在各种免疫细胞中也有广泛表达, 如 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞和树突状细胞。

2 Notch 的结构特点和功能

Notch 受体是一个约 300 kD 的单跨膜蛋白, 其胞外区和胞内区均高度保守。Notch (p300) 基因的翻译产物可以产生一个由 180 kD (p180) 和 120 kD (p120) 多肽段构成的异二聚体^[4]。p180 包含大部分的胞外区, p120 部分则包含跨膜区和胞内区^[5]。

2.1 胞外区

含有 33~36 个随机的表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 样重复序列和 3 个 lin-12/Notch 重复区 (LNR), 它的功能主要是和配体结合并激活 Notch^[6-7]。基因分析表明 Notch 胞外近膜区在缺少配体结合的情况下, 起抑制信号的作用。在未成熟的 Notch 蛋白中, 1 654 位精氨酸残基和 1 655 位谷氨酸残基之间存在一个裂解位点 (S1 位点), 在 Notch 成熟的过程中, S1 位点发生裂解, 从而产生 2 个亚基, 再重新组装成异二聚体形式的 Notch 蛋白。Mumm 等^[8]在

Notch 胞外近膜区丙氨酸-1710 与缬氨酸-1711 之间发现了另一个裂解位点 S2。Notch 与其配体的结合导致 Notch 在 S2 位点发生裂解, 其碳端的裂解产物 NEXT (Notch extracellular truncation) 可以进一步在跨膜区 S3 位点发生裂解, 产生活化形式的 ICN (intracellular Notch)。通过点突变或抑制 γ -Secretase 阻断 ICN 的产生可使 NEXT 发生积聚, 而抑制 NEXT 产生则能减少 ICN 的聚集。这些资料揭示了一个由配体诱导产生的激活 Notch 的蛋白裂解级联反应。

表 1 Notch 信号分子在免疫细胞上的表达或功能^[1,3]

基因	表达/功能
Notch1	T 细胞, 巨噬细胞, 前体细胞
Notch2	T 细胞, B 细胞, 前体细胞
Notch3	广泛表达
Notch4	巨噬细胞
Delta	广泛表达
Jagged1	巨核细胞, 基质细胞, 树突状细胞
Jagged2	T 细胞, 树突状细胞
CBF1/RBPJ κ	转录阻抑剂
HES1	bHLH 转录因子
Manic fringe	前体细胞, 中性粒细胞, 巨噬细胞, B 细胞
Radical fringe	广泛表达
Lunatic fringe	增强 Notch/Delta 之间的相互作用
Presenilin 1	γ -Secretase
Mastermind	辅助激活剂
TLE	辅助阻抑剂
Deltex	辅助激活剂
Numb	Notch 抑制剂

2.2 单孔的跨膜区(single pass transmembrane region, TM)

在跨膜区甘氨酸-1743 和缬氨酸-1744 之间存在一个 S3 裂解位点。经由 Presenilin-1 等水解作用, Notch 蛋白在 S3 位点发生分解,生成胞内段 ICN 和一个短的跨膜片段^[6]。

2.3 胞内区

包括 RAM 结构域(high affinity CSL-binding site)、cdc10/SW16/ankyrin 重复区、核定位信号(nuclear localization signals, NLS)和 C-OPA(glutamine-rich region)/PEST(proline-glutamate-serine-threonine-rich region)aq^[6-9]。锚蛋白重复区对 Notch 与我种胞内蛋白的结合以及胞内信号的转导具有重要作用。研究表明,Notch 胞内区无节制的表达可以产生“活化”的 Notch 表型。在这些研究中,组成性活化形式的胞内区 Notch 分子表达产生的表型与胞外配体激活全长 Notch 分子后所产生的表型是一致的。这些被截断的 Notch 分子缺少大部分或全部的胞外区,仅保留胞内部分或者包含 cdc10 重复区的胞内部分。哺乳动物 Notch 同源体 TAN-1(hNotch1)和 int-3,在相同区域被截断后均可使细胞恶性变。这些观察证实 Notch 胞内区无限制的活化通过某种特殊的途径抑制分化,使细胞发生增殖^[9]。

3 Notch 信号转导途径和机制

Notch 的信号转导是个复杂的过程,其复杂性体现在:多种 Notch 受体、配体共同存在;激活 Notch 可以引发多条信号途径;许多胞外和胞内蛋白能通过不同的机制调节 Notch 信号;Notch 受体的表达水平影响了 Notch 信号的效应。

Notch 有多个配体,包括果蝇中发现的 Delta, Serrate;线虫中的 Lag-2 和 Apx-1;以及在哺乳动物中发现的两类 Notch 配体 Delta 和 Serrate/Jagged。Delta 家族有小鼠的 Delta-like-1,3; Serrate/Jagged 家族有大鼠和人类的 Jagged-1,2^[10]。Notch 的配体 Delta, Serrate/Jagged 和 Lag-2(DSL)均为单孔跨膜蛋白,都具有一个保守的 DLS 功能区。DLS 区是一个包含 6 个半胱氨酸和 3 个甘氨酸的 45 个氨基酸序列。Notch 配体通过 DLS 区与邻近细胞上表达的 Notch 受体相互作用,激活 Notch 信号途径^[2]。

Notch 胞外区与其配体结合后调节细胞间的相互作用并进而激活 Notch,在跨膜区 S3 裂开,从膜上释放 Notch 胞内区部分^[1,8]。ICN 可转位进入核内, RAM 区结合 CSL 蛋白, CSL 蛋白包括哺乳动物中的 CBF1(C-promoter binding protein-1)/RBP-Jκ(Recombination signal Binding protein-JKappa)/果蝇的 Suppressor of Hairless[Su(H)]/线虫的 Lag-1^[2,6,8]。CBF-1 是 Notch 活化信号中关键的转录调节因子。果蝇中 CBF-1 或 Notch 的缺陷可使发育中的胚胎神经组织取代上皮组织大量扩增,导致果蝇死亡。CBF-1 可结合 DNA 序列 GTGGAA,是脊椎动物细胞中的一个转录因子。CBF-1 基因敲除小鼠实验结果显示 CBF-1 蛋白在胚泡植入子宫内膜后的发育过程中,尤其是体节的形成和神经系统的分化中起着不可替代的作用^[11]。除 CBF-1 信号途径以外,Notch 也可以通过 CBF-1-非依赖途径发挥作用。例如,Notch/Delta 传递的信

号可以抑制 Ras 和 JNK 依赖性的碱式螺旋-回折-螺旋(bHLH)转录因子 E47 的活性。

Notch-IC-CSL 复合物在核内的转移可激活包括 Enhancer of Split[E(Spl)]家族(脊椎动物中为 Hairy Enhancer of Split 即 HES 或 ESR)成员在内的下游基因,通过与它们的启动子结合,编码碱式螺旋-回折-螺旋(bHLH)转录因子,调节基因表达。E(Spl)/HES 蛋白可以抑制它们目的基因的转录,阻止未分化的前体细胞获得分化的表型,作为转录阻碍物参与细胞决定^[11-15]。

Notch 的另一个靶基因是 NF-γB2(p100/p52)。无 Notch 信号时, CBF-1 抑制 NF-γB2 的表达;活化 Notch 能使 CBF-1 转化为转录激活剂,促进 NF-γB2 的表达。

4 Notch 信号的调节

在许多情况下,Notch 转导的信号是与其他细胞因子的信号途径相互作用来调节多潜能前体细胞的分化的。Notch 受体能利用不同的信号途径,彼此互相影响,互相作用。Notch 蛋白和其它信号相关分子的表达水平和表达时间、细胞内定位和转录后调节等许多因素都可以对其信号传导发挥调节作用。某些细胞表达组成性活化形式的 Notch 后,细胞内其它信号通路,如 MAPK 家族成员也可以被激活^[16-17]。此外,通过与诸如 Wingless, Dishevelled, Big Brain, Numb, Hairless, Fringe, 和 Scute 等蛋白相互作用,Notch 信号通路能在多种水平上被加以调节^[2]。

对果蝇和线虫的研究发现,表达 Notch 受体和它的配体的相邻前体细胞之间存在一种反馈机制,可以放大其 Notch 信号途径之间的微小差别^[18]。Notch 受体的信号传导能引起配体的下调和受体的上调,形成一个自我加强的反馈链^[12,16]。通过这种方式,起初在前体细胞 Notch 受体和它的配体之间的微小差别被放大,最后一个细胞成为“接收”细胞,它的邻近细胞成为“发送”细胞,决定了细胞的分化方向。近来的一些研究提示脊椎动物中也存在相似的反馈机制^[19-20]。

Notch 信号途径在胚胎的发育过程中是一条必需的途径。通常,Notch 的活化能影响前体细胞对多种环境信号的反应,通过一条特殊的途径使细胞能够选择其分化发育的方向。Notch 作为一种古老的、保守的膜蛋白,可通过与邻近细胞上的 Notch 配体相互作用,调节细胞的分化、生长。对 Notch 的深入研究对于揭示自然生命现象和病理变化无疑具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Kojima S, Griffin JD. Notch receptors and hemopoiesis[J]. Exp Hematol. 2001, 29: 1041-1052.
- [2] Holland LZ, Rached LA, Tamme R, et al. Characterization and developmental expression of the amphioxus homolog of Notch(AmphNotch): Evolutionary conservation of multiple expression domains in amphioxus and vertebrates[J]. Dev Biol, 2001, 232: 493-507.
- [3] Yamaguchi E, Chiba S, Kumano K, et al. Expression of Notch

- Ligands, Jagged1, 2 and Delta1 in antigen presenting cells in mice [J]. Immunol Lett, 2002, 81,(1): 59-64.
- [4] Bush G, diSibio G, Miyamoto A, *et al.* Ligand-induced signaling in the absence of furin processing of Notch1[J]. Dev Biol, 2001, 229: 494-502.
- [5] Redmond L, OH SR, Hicks C, *et al.* Nuclear Notch1 signaling and the regulation of dendritic development[J]. Nat Neurosci, 2000, 3(1): 30-40.
- [6] Schroeder T and Just U. mNotch1 signaling reduces proliferation of myeloid progenitor cell by altering cell-cycle kinetics[J]. Exp Hematol, 2000, 28: 1206-1213.
- [7] Schroeder T, Just U. Notch signaling via RBP-J promotes myeloid differentiation[J]. EMBO J. 2000, 19(11): 2558-2568.
- [8] Mumm JS, Schroeter EH, Saxena MT, *et al.* A ligand-induced extracellular cleavage regulates (-Secretase-like proteolytic activation of Notch1[J]. Mol Cell, 2000, 5: 197-206.
- [9] Milner LA, Bigas A, Kopan R, *et al.* Inhibition of granulocytic differentiation by mNotch1. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 13014-13019.
- [10] Han W, Ye Q, Moore AS. A soluble form of human Delta-like-1 inhibits differentiation of hematopoietic progenitor cells[J]. Blood, 2000, 95(5): 1616-1625.
- [11] Ansieau S, Strobl LJ, Leutz A. Activaton of the Notch-regilated transcription factor CBF-1/RBP-J κ through the 13SE1A oncoprotein [J]. Genes Dev, 2001, 15: 380-385.
- [12] Roncs MS, Mclaughlin KA, Raffin M, *et al.* Serrate and Notch specify cell fates in the heart field by suppressing cardiomyogenesis [J]. Development, 2000, 127: 3865-3876.
- [13] Morimura T, Goitsuka R, Zhang Y, *et al.* Cell cycle arrest and apoptosis induced by Notch1 in B cells[J]. J Biol Chem, 2000, 275(47): 36523-36531.
- [14] Nakagawa O, McFadden DG, Nakagawa M, *et al.* Members of the HRT family of basic helix-loop-helix proteins act as transcriptional repressors downstream of Notch signaling[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(25): 13655-13660.
- [15] Hirsinger E, Malapert P, Dubrulle J, *et al.* Notch signaling acts in postmitotic avian myogenic cells to control MyoD activation[J]. Development, 2001, 128: 107-116.
- [16] Sriuranpong V, Borges MW, Ravi RK, *et al.* Notch signaling induces cell cycle arrest in small cell lung cancer cells[J]. Cancer Res, 2001, 61(7): 3200-3205.
- [17] Wang W, Prince C, Mou Y, *et al.* Notch3 signaling in vascular smooth muscle cells induces c-FLIP expression via ERK/MAPK activation; Resistance to FasL-induced apoptosis[J]. J Biol Chem, 2002, in press.
- [18] Washburn T, Schweighoffer E, Gridley T, *et al.* Notch activity influences the $\alpha\beta$ versus $\gamma\delta$ T cell lineage decision[J]. Cell, 1997, 88: 833-843.
- [19] Robey E, Chang D, Itano A, *et al.* An activated form of Notch influences the choice between CD4 and CD8 T cell lineages[J]. Cell, 1996, 87: 483-492.
- [20] Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal transduction in development[J]. Science, 1999, 284: 770-776.

[收稿日期] 2002 - 05 - 10

[修回日期] 2002 - 06 - 20