

引用本文: 楚师成, 高学军, 宋云浩, 等. 信号素 3F 及其受体神经纤毛蛋白在肿瘤微环境中的研究进展[J]. 安徽医药, 2021, 25(4): 641-644. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.04.002.



◇ 综述 ◇

信号素 3F 及其受体神经纤毛蛋白在肿瘤微环境中的研究进展

楚师成, 高学军, 宋云浩, 吴天宇

作者单位: 滨州医学院烟台附属医院胸外科, 山东 烟台 264000

通信作者: 高学军, 男, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为胸部肿瘤基础与临床研究, Email: xwkgxj@163.com

摘要: 肿瘤微环境可以经不同信号通路分泌多种血管生成因子、炎性细胞因子和趋化因子, 利用多种间质细胞组成的庞杂系统加快肿瘤的进展。其中信号素(semaphorins, SEMA)是肿瘤微环境的重要调节因子, 信号素-神经纤毛蛋白(SEMA-NRP)复合物参与肿瘤抑制途径, 本研究期望通过对肿瘤微环境中信号素 3F(semaphorins 3F, SEMA3F)及其受体神经纤毛蛋白(neuropilin, NRP)作用的综述, 为将来对肿瘤进行早期靶向治疗提供依据。

关键词: 信号素 3F; 神经纤毛蛋白质类; 肿瘤微环境; 综述

Research progress of SEMA3F and its receptor NRP in tumor microenvironment

CHU Shicheng, GAO Xuejun, SONG Yunhao, WU Tianyu

Author Affiliation: Department of Thoracic Surgery, Yantai Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Yantai, Shandong 264000, China

Abstract: Tumor microenvironment is a complex system containing a variety of Leydig cells, which secrete a variety of inflammatory cytokines, chemokines and angiogenic factors through signaling pathways to accelerate tumor development. Among them, semaphorins (SEMA) is an important regulator of the tumor microenvironment, and semaphorins-neuropilin (SEMA-NRP) complex is involved in the tumor inhibition pathway. The role of SEMA3F and its receptor neuropilin (NRP) in tumor microenvironment is reviewed with a view to the early targeted therapy of tumors in the future.

Key words: Semaphorin-3F; Neuropilins; Tumor microenvironment; Review

肿瘤被认为是孤立的细胞团块, 独立存在于器官特定部位的时代早已一去不复返了。目前的观点认为, 肿瘤与细胞外基质、血管、结缔组织和免疫细胞在其周围环境中的相互作用构成肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)促进肿瘤的生长、侵袭和转移^[1]。肿瘤细胞的免疫逃避、生理耐受以及局部和全身的侵袭性由其所处的肿瘤微环境决定, 不同的微环境造就了不同的肿瘤特性。信号素(semaphorins, SEMA)是肿瘤微环境的重要调节因子, 在癌症中的调节作用不容忽视。一方面, 肿瘤的进展和转移扩散取决于癌细胞的固有属性, 如存活、自我更新以及迁移和侵袭性的能力。另一方面, 肿瘤间质包括内皮细胞、成纤维细胞和免疫系统细胞与癌细胞进行活跃的分子串扰。在肿瘤血管中过度表达的神经纤毛蛋白(neuropilin, NRP)会导致肿瘤播散及其他不良结果。本研究对肿瘤微环境中信号素 3F(semaphorins 3F, SEMA3F)及其受体 NRP 在肿瘤微环境中的作用进行综述。

1 SEMA

SEMA 是一类分泌型、跨膜型和糖磷脂酰肌醇

连接的糖蛋白, 在脊椎动物中, 信号素家族的 20 多个成员已经被识别出来, 并根据结构特性被划分为 5 个类别(SEMA 3-7); 第 3 类信号素为分泌蛋白, 第 4-6 类信号素为跨膜蛋白, 第 7 类信号素为膜相关蛋白。信号素最初被描述具有轴突导向分子的功能, 在神经元发育过程中起调节神经元网络作用, 但现在已经认识到, 它还具有非神经元特性, 包括血管生成、炎症和肿瘤发展。

近年来, 信号素被发现参与到血管和肿瘤生物学中, 它可以弱化体外内皮细胞迁移和肿瘤细胞外侵, 也可以抑制体内肿瘤的进展、转移和血管生成^[2]。其中 3 类信号肽可以抑制肿瘤细胞和对肿瘤进展起关键作用的基质细胞类型, 如血管内皮细胞; 也可以利用 NRP 和丛状蛋白(Plexin)诱导肌动蛋白细胞骨架坍塌, 最终达到抑制肿瘤细胞和内皮细胞迁移和运动的目的^[3]。然而, 也有一些 3 类信号素, 如 SEMA3C 和 SEMA3E, 具有双重活性, 由于具有激活 Plexin-B1 受体的能力和被切割的 SEMA3E 激活 ErbB2(表皮生长因子受体 2)等特性而同时具有诱导和抑制肿瘤进展的作用。

SEMA3F被认为是一种潜在的肿瘤抑制因子,其主要作用在于抑制多种癌细胞的生长、侵袭和转移。首先,它可以直接抑制肿瘤细胞的存活、黏附、运动和侵袭,如在乳腺癌中,癌细胞的附着和片状脂质的延伸可以被SEMA3F抑制^[4]。其次,它在体外和体内的高转移肿瘤细胞中的表达持续下调。同时表达SEMA3F的肿瘤细胞在体外抑制细胞黏附、迁移以及体内肿瘤血管生成和转移,如过度表达SEMA3F的黑色素瘤细胞在体外迁移减少,并导致体内良性肿瘤表型。最后,SEMA3F可以抑制血管生成过程中的细胞黏附、迁移和微血管萌发等步骤从而对血管内皮细胞产生直接影响。利用SEMA3F对激活整合素以及对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子的抑制来减少肿瘤血管的生成。表达SEMA3F的肿瘤细胞可以产生类似于信号素诱导的轴突排斥反应来排斥淋巴内皮细胞。作为肿瘤抑制基因,SEMA3F映射到人类染色体3p21.3上的一个区域,该区域杂合性的丢失已被证实与肺癌的发生相关。在肺癌中,SEMA3F的过度表达与致癌性降低相关。在纤维肉瘤细胞系中,SEMA3F已被证明会导致其完全丧失致癌性。良性肿瘤细胞表达SEMA3F,而高转移的肿瘤细胞不表达SEMA3F,这表明转移潜能和SEMA3F表达之间存在反向关系。

作为肿瘤微环境中的重要组成成分,SEMA3F对肿瘤细胞和周围的非肿瘤细胞包括巨噬细胞、成纤维细胞和内皮细胞等有多方面的影响。SEMA3F是一种分泌性生理mTOR(哺乳动物雷帕霉素靶体蛋白)抑制剂,通过磷脂酰肌醇3激酶-蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶体蛋白(PI-3K-Akt/mTOR)信号通路来抑制肿瘤生长、血管生成和转移(图1)^[5]。SEMA3F也可与血管内皮生长因子-C(vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C)竞争性结合神经纤毛蛋白-2(neuropilin-2, NRP2)从而抑制淋巴管生成。SEMA3F体外抑制VEGF诱导的转录与翻译以及体内的强大的抗肿瘤作用使其成为肿瘤微环境调节剂成为可能。

2 NRP

1987年,在非洲爪蟾中Takagi等^[6]通过免疫荧光法在其神经组织的冷冻切片中发现了一种跨膜糖蛋白家族的多功能非酪氨酸激酶受体-NRP。它包括神经纤毛蛋白-1(neuropilin-1, NRP1)和NRP2两个亚型。NRP1和NRP2两个基因,结构域和功能域同源性约有50%。细胞外结构域分为三个子结构域,2个CUB结构域同源性区域(a1和a2)、2个凝固因子V/VIII同源性区域(b1和b2),它们是配

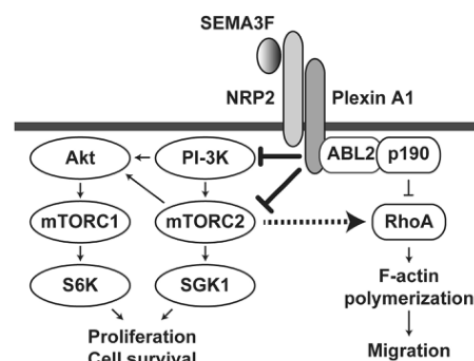


图1 信号素3F-神经纤毛蛋白2/丛蛋白相互作用介导的调控信号通路示意图^[5]

体结合域;1个含有MAM结构域的C区域,这些区域是二聚反应的关键。各种脉管细胞及神经组织之所以在萌发及生长过程中表现为不同的生物学特性,就是得益于不同亚型的NRP蛋白上的不同位点具有辨别SEMA或VEGF的能力^[7]。

NRP1和NRP2都是胚胎血管发育必不可少的早期基因。但NRP自身不能启动信号通路,需要与神经丛蛋白或血管内皮生长因子受体(VEGF receptors, VEGFRs)等受体相互作用才能发挥生物学效应^[8]。血管内皮细胞膜的表层的NRP1通过与VEGF及其受体形成NRP1/VEGF/血管内皮生长因子受体2(VEGF receptors 2, VEGFR2)复合体来促进血管生成及肿瘤的发生。NRP1还可与VEGF及其受体外的(如血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和血小板衍生生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR))其他生长因子结合,对细胞增殖及血管生成形成重要影响。此外, NRP1可以通过不依赖于VEGF-VEGFR2途径的Abelson酪氨酸激酶(Abelson tyrosine kinase, ABL)途径促进血管生成。还有,肿瘤生长可在纤维连接蛋白与NRP1结合后激活ABL得到促进。肿瘤治疗中单独抑制VEGF-VEGFR2通路的局限性在抑制NRP1后得到克服,这为肿瘤的靶向治疗提供新思路。

NRP2可与VEGF-A165、VEGF-A145、VEGF-C和PLGF(胎盘生长因子)结合并在淋巴管内皮细胞膜的表层表达,正常淋巴管与肿瘤间质淋巴管的萌发生长和淋巴道转移被其所调控^[9]。研究表明,在VEGF-C介导的VEGFR3信号通路和发育性淋巴管生成中NRP2扮演了重要角色^[10]。此外白血病、黑色素瘤和神经母细胞瘤等非上皮性肿瘤中也检测到了NRP2的存在。已成为潜在的免疫治疗靶点的肿瘤相关巨噬细胞(Tumor-associated macrophages, TAM)以免疫沉默的方式吞噬肿瘤微环境(Tumor microenvironment, TME)中凋亡的肿瘤细胞,维持免

免疫抑制的微环境,从而达到对肿瘤的发生和抗肿瘤免疫反应的调节。NRP2可以在巨噬细胞的分化过程中被肿瘤细胞诱导表达,其也可以影响巨噬细胞的吞噬功能。以CD8⁺T和NK细胞浸润为特征的抗肿瘤免疫反应在因TAM中NRP2缺失导致肿瘤细胞清除障碍、肿瘤内继发性坏死增加以及免疫耐受破坏的情况下被重新启动。这提示胞吐与免疫抑制之间可能由NRP2作为介质形成连接。此外,在骨肉瘤^[11]和结直肠癌^[12]中,肿瘤转移及预后与NRP2的表达程度密切相关,并且通过短发夹RNA沉默NRP2的表达减少了肿瘤的发展。

3 SEMA3F-NRP复合物

NRP作为SEMA的关键受体之一,最经典的作用作为3类分泌型SEMAs的结合蛋白^[13]。除了与Plexin-D1直接结合的SEMA3E之外,3类SEMAs需要NRP作为辅助受体来介导信号传递。NRP受体具有非常短的胞内域,在某些情况下不需要这些结构域来传递SEMA信号,但是NRP与各种信号转导受体(包括丛蛋白和细胞黏附分子)一起工作,并且可以作用于稳定SEMA/受体之间的相互作用。NRP1和NRP2可以结合SEMA3B和SEMA3C,而通常认为NRP2只对SEMA3F和SEMA3G具有较高的结合亲和力。但Nasarre等^[14]发现SEMA3F可能能够使用NRP1转导信号,对于表达NRP1但不表达NRP2的乳腺癌MDA-MB-231细胞,SEMA3F可成功抑制其肿瘤形成,SEMA3F对其应无抑制作用,但在其细胞中NRP1的含量高,因此认为NRP1是SEMA3F形成对肿瘤细胞抑制作用的媒介,而且使SEMA3F得到了高表达。同时SEMA3F对这类细胞衍生肿瘤的抗血管新生作用的抑制增强了这种效果。但在MCF-7细胞中,其仅表达SEMA3F及NRP1,因此在含有MCF-7的肿瘤中,SEMA3F缺乏抗肿瘤作用,由于含有MCF-7的肿瘤细胞中NRP1受体浓度较低以及NRP2表达下调,导致SEMA3F诱导抗血管生成作用降低,减弱了其抗肿瘤的作用。因此在不同的细胞中,SEMA3F对NRP的结合力不同,不可把SEMA3F认为是纯NRP2的结合剂。

信号素控制肿瘤细胞行为信号素作为多功能信号,能够控制肿瘤细胞的多种功能,从生存、增殖和凋亡到细胞黏附和迁移。信号素可能是由肿瘤微环境中的细胞(如浸润的白细胞)释放的,也可能是由癌细胞释放的,癌细胞可以建立自己的自分泌调节环。细胞存活、增殖和凋亡共同决定癌症进展的细胞行为的基本变化包括生长信号的自给自足、无限的复制潜力和避免凋亡。SEMA3F作为NRP的一种特定配体,它与NRP2的相互作用在体外可抑制血管内皮生长因子的表达,降低mTOR诱导的细

胞活化反应以及使稳定的细胞骨架遭到破坏^[15]。存在于异种移植物中表达NRP2的肿瘤会被体内局部和全身超量生成的SEMA3F抑制其生长。SEMA3F通过抑制VEGF的产生和分泌,阻断VEGF-NRP结合,从而抑制肿瘤细胞的生成特性。已经有多个研究小组证明SEMA3F可以抑制多种肿瘤的肿瘤生长、淋巴生成和转移,如黑色素瘤、骨肉瘤、卵巢癌、结肠癌和肺癌。这些肿瘤的VEGF-C表达、T分期、淋巴结转移、淋巴管浸润、淋巴管密度与NRP2的表达呈正相关。而SEMA3F的低表达与分化差、淋巴结转移率高显著相关。表达高水平VEGF-C或NRP2,或低水平SEMA3F的患者复发风险更高,总生存期更短^[16]。如在肺癌中Zeb-1(E-box转录抑制因子)直接结合SEMA3F基因的启动子,抑制SEMA3F转录。SEMA3F通常被认为是一种肿瘤抑制基因,在实体瘤中它的表达表现为下调,但它在白血病和淋巴瘤中的功能可能不同,有待于进一步验证。而NRP2被认为是某些实体肿瘤的潜在治疗靶点,并且阻断抗体和其他靶向工具已经在小鼠模型中得到了验证^[17]。同时NRP1已被作为癌症治疗的寡肽候选药物成功地用于靶向治疗淋巴瘤细胞。SEMA3F的缺失是神经内分泌肿瘤的一个肿瘤前事件,而其受体NRP2也可作为神经内分泌肿瘤的潜在治疗靶点。

Bagri等^[18]的研究表明NRP2受体在VEGF-C和SEMA3F中都是常见的,这两种配体在调控血管生成和淋巴管生成方面可能存在竞争关系,SEMA3F通过与VEGF-C竞争与NRP2结合而抑制淋巴管生成,发挥抗肿瘤作用。SEMA3F可以抑制体外VEGF诱导人脐静脉内皮细胞的存活和增殖也可以抑制体内VEGF诱导血管的生成;然而,这种抑制不是通过SEMA3F和VEGF之间的竞争介导的,而是在需要活跃的SEMA3F介导的信号传导的细胞内水平上进行调节。SEMA3F过度表达是否可用来抑制VEGF的促血管生成和有丝分裂效应,以及当加入抗VEGF治疗时,外源性SEMA3F治疗是否具有相加或协同作用,仍需要进一步的研究去阐述。因此,针对SEMA及其受体NRP的干预可能是对抗癌症进展的一种新的治疗策略。

细胞周期阻滞、凋亡、DNA修复和抗血管生成在内的四大类主要基因被认为参与了p53调节的肿瘤抑制的核心机制。肿瘤的萌发与生长与血管的产生密不可分,因此抗肿瘤的重要步骤是阻断肿瘤血管的生成。p53可激活抗血管生成因子基因的转录。SEMA3F及其受体NRP2作为肿瘤抑制基因p53的直接靶基因,可能在肿瘤发生过程中介导p53调节的抗血管生成,参与了抑癌通路^[19]。抗血管生

成介质TSP1(血小板反应蛋白-1)和BAI1(脑特异性血管生成抑制因子1)是p53的转录靶基因已被熟知。除了这些以外,SEMA3F已成为第三个抗血管生成的靶基因。

慢性炎症、自身免疫性疾病、癌症辅助治疗以及同种异体移植排斥反应可以通过靶向mTOR信号通路实现。mTOR是由mTOR、Raptor和mLST8(mTORC1,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体1)或mTOR、Rictor、SIN1、Protor和mLST8(mTORC2,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体2)组成的一种丝氨酸/苏氨酸激酶。对于大多数正常细胞类型生存所必需的细胞代谢、分化、增殖过程来说,mTORC1和mTORC2的信号传导具有举足轻重的作用。Nakayama等^[4]的研究mTORC1以及mTORC2在胶质母细胞瘤细胞中可以被SEMA3F抑制,而且mTORC2的其他靶标,如血清/糖皮质激素调节激酶-1(serum/glucocorticoid-regulated kinase-1,SGK1)和蛋白激酶C(protein kinase C,PKC),也可被SEMA3F抑制。总之,SEMA3F-NRP2复合体是调节PI-3K-Akt/mTOR信号转导活性的。SEMA3F部分通过调节mTOR活性抑制可诱导的VEGF表达。SEMA3F-NRP2复合体可以使细胞内PI-3K通路活性受到抑制,减弱具有mTORC2依赖性的信号传导,降低RhoA(Ras基因家族同源物A)活性以及减少细胞骨架应力纤维的形成。

4 总结

综上所述,在肿瘤的发生、发展过程中,SEMA3F以及NRP扮演了重要角色。SEMA3F的抗增殖和抗血管生成活性是其与NRP1和NRP2相互作用的结果,对于恶性肿瘤转移有着决定性作用。基于目前的研究结果,为防止或延缓恶性肿瘤转移,针对SEMA、NRP的研究从未停止,SEMA3F的全身治疗是一种潜在的肿瘤微环境调节剂;然而,SEMA3F在体内的安全性和稳定性还需进一步确认才能应用于临床。该文章对SEMA及NRP在肿瘤微环境中对肿瘤的发生、发展进行综述,以期对未来更多学者的实验研究提供帮助。

参考文献

- [1] FRANZOLIN G, TAMAGNONE L. Semaphorin Signaling in Cancer-Associated Inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(2): 377. DOI: 10.3390/ijms20020377.
- [2] DELGOFFE GM, WOO SR, TURNIS ME, et al. Stability and function of regulatory T cells is maintained by a neuropilin-1-semaphorin-4a axis [J]. *Nature*, 2013, 501(7466): 252-256.
- [3] TOLEDANO S, NIR-ZVIL I, ENGELMAN R, et al. Class-3 Semaphorins and Their Receptors: Potent Multifunctional Modulators of Tumor Progression [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3):

20030556. DOI: 10.3390/ijms20030556.

- [4] NAKAYAMA H, KUSUMOTO C, NAKAHARA M, et al. Semaphorin 3F and Netrin-1: the novel function as a regulator of tumor microenvironment [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1662.
- [5] NAKAYAMA H, BRUNEAU S, KOCHUPURAKKAL N, et al. Regulation of mTOR signaling by semaphorin 3F-Neuropilin 2 interactions in vitro and in vivo [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11789.
- [6] TAKAGI S, TSUJI T, AMAJAI T, et al. Specific cell surface labels in the visual centers of *Xenopus laevis* tadpole identified using monoclonal antibodies [J]. *Dev Biol*, 1987, 122(1): 90-100.
- [7] OU JJ, WEI X, PENG Y, et al. Neuropilin-2 mediates lymphangiogenesis of colorectal carcinoma via a VEGFC/VEGFR3 independent signaling [J]. *Cancer Lett*, 2015, 358(2): 200-209.
- [8] WANG J, HUANG Y, ZHANG J, et al. NRP-2 in tumor lymphangiogenesis and lymphatic metastasis [J]. *Cancer Lett*, 2018, 418: 176-184.
- [9] MATSUMOTO M, ROUFAIL S, INDER R, et al. Signaling for lymphangiogenesis via VEGFR-3 is required for the early events of metastasis [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2013, 30(6): 819-832.
- [10] XU Y, YUAN L, MAK J, et al. Neuropilin-2 mediates VEGF-C-induced lymphatic sprouting together with VEGFR3 [J]. *J Cell Biol*, 2010, 188(1): 115-130.
- [11] JI T, GUO Y, KIM K, et al. Neuropilin-2 expression is inhibited by secreted Wnt antagonists and its down-regulation is associated with reduced tumor growth and metastasis in osteosarcoma [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 86.
- [12] 周秋媛, 王红莉, 李虹, 等. NRP-1和NRP-2在结直肠癌组织中的表达水平及临床意义 [J]. *现代检验医学杂志*, 2016, 31(6): 85-87, 91.
- [13] ALTO LT, TERMAN JR. Semaphorins and their signaling mechanisms [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1493: 1-25.
- [14] NASARRE P, CONSTANTIN B, ROUHAUD L, et al. Semaphorin SEMA3F and VEGF have opposing effects on cell attachment and spreading [J]. *Neoplasia*, 2003, 5(1): 83-92.
- [15] REICHERT S, SCHEID S, ROTH T, et al. Semaphorin 3F promotes transendothelial migration of leukocytes in the inflammatory response after survived cardiac arrest [J]. *Inflammation*, 2019, 42(4): 1252-1264.
- [16] ZHANG B, GAO Z, SUN M, et al. Prognostic significance of VEGF-C, semaphorin 3F, and neuropilin-2 expression in oral squamous cell carcinomas and their relationship with lymphangiogenesis [J]. *J Surg Oncol*, 2015, 111(4): 382-388.
- [17] ELAIMY AL, GURU S, CHANG C, et al. VEGF-neuropilin-2 signaling promotes stem-like traits in breast cancer cells by TAZ-mediated repression of the Rac GAP β 2-chimaerin [J/OL]. *Sci Signal*, 2018, 11(528): aao6897. DOI: 10.1126/scisignal.aao6897.
- [18] BAGRI A, TESSIER-LAVIGNE M, WATTS RJ. Neuropilins in tumor biology [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(6): 1860-1864.
- [19] FUTAMURA M, KAMINO H, MIYAMOTO Y, et al. Possible role of semaphorin 3F, a candidate tumor suppressor gene at 3p21.3, in p53-regulated tumor angiogenesis suppression [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4): 1451-1460.

(收稿日期:2019-12-30,修回日期:2020-02-02)