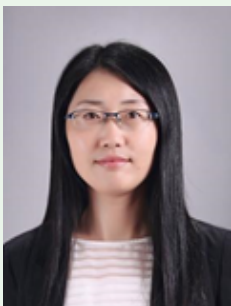


·特约综述·献礼百年校庆·

N-钙黏蛋白功能研究进展

陈文灿, 周 倜

(中山大学中山医学院生物化学与分子生物学系, 广东 广州 510080)



作者简介: 周倜, 女, 博士研究生导师, 教授。2006年获得中山大学中山医学院临床医学专业学士学位, 2011年获得中山大学生物化学与分子生物学专业博士学位。2008年至2011年攻博期间在美国University of Oklahoma糖尿病研究中心从事糖尿病并发症的分子机制方面的研究工作。2011年以师资博士后留校工作, 荣获“中山大学优秀博士后”。2014年入选广东省“千百十工程”校级培养对象, 2015年入选广州市珠江科技新星, 2016年入选广东省特支计划百千万工程青年拔尖人才。2019年获得“中国生物化学与分子生物学微课公开赛一等奖”。研究方向为代谢性疾病及器官损伤, 侧重“糖尿病血管并发症与脂质代谢异常”。作为负责人主持省部级以上基金项目共12项, 其中包括国家自然科学基金4项。在PNAS、STTT、Diabetologia、CDD等杂志以通讯作者和第一作者含并列发表SCI论文19篇。现任中国生物化学与分子生物学会第四届教育专业分会副秘书长。E-mail: zhouti2@mail.sysu.edu.cn。

摘 要: N-钙黏蛋白(N-cadherin), 也称作神经钙黏蛋白(neural-cadherin/Cadherin-2), 是一种钙依赖的跨膜糖蛋白, 在细胞间粘附、细胞分选、神经发育以及多种生理和病理过程中发挥着关键作用。近年来, 随着分子生物学和细胞生物学的快速发展, N-钙黏蛋白的功能研究取得了显著进展, 为理解肿瘤转移、神经退行性疾病等提供了重要线索。本文综述了近年来N-钙黏蛋白功能研究的主要进展, 包括其分子结构、生物学功能、信号转导机制以及在疾病中的作用, 最后总结了N-钙黏蛋白的临床应用前景以及未来研究方向的展望。以期在未来N-cadherin作为新靶点治疗疾病的相关研究和临床应用提供一定的理论参考。

关键词: N-钙黏蛋白; 调控与功能; 细胞信号转导; 发病机制; 临床应用

中图分类号: R3

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2024)06-0866-10

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).20241030.002

Research Progress in N-cadherin Function

CHEN Wencan, ZHOU Ti

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Correspondence to: ZHOU Ti; E-mail: zhouti2@mail.sysu.edu.cn

Abstract: N-cadherin, also known as Neural-cadherin/Cadherin-2, is a calcium-dependent transmembrane glycoprotein that plays a crucial role in cell-to-cell adhesion, cell sorting, nerve development and a variety of physiological and pathological processes. In recent years, with the rapid development of molecular biology and cell biology, the functional research of N-cadherin has made remarkable progress, providing essential clues for understanding tumor metastasis and neurodegenerative diseases. In this paper, the main progress in N-cadherin functional research in recent years is reviewed, including its molecular structure, biological function, signal transduction mechanism and its role in diseases. Finally, the clinical application prospect and future research direction of N-cadherin are summarized. It is

收稿日期: 2024-09-05

录用日期: 2024-10-14

基金项目: 国家自然科学基金(82070882); 广东省自然科学基金(2023A1515010316, 2024A1515012449)

expected to provide some theoretical reference for future research and clinical application of N-cadherin as a new target for the treatment of diseases.

Key words: N-cadherin; regulation and function; cell signal transduction; pathogenesis; clinical application

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2024, 45(6): 866-875]

1 N-钙黏蛋白概述

1.1 N-钙黏蛋白的基本结构

钙黏蛋白超家族是一大类依赖 Ca^{2+} 的糖蛋白超家族分子,钙黏蛋白是一种细胞粘附分子(cell adhesion molecules, CAM),在形成粘附连接时,细胞之间彼此结合,发挥着重要的作用。同样它们是一类跨膜蛋白,它们依赖于钙离子起作用,因此得名。钙黏蛋白超家族根据不同的结构和功能差异,可以划分为经典钙黏蛋白,原钙黏蛋白和非经典钙黏蛋白等亚家族,在钙黏蛋白家族中经典钙黏蛋白是最早发现的亚家族,目前已知的有18个成员,根据胞外区的差异,又可将经典钙黏蛋白细分为I型和II型^[1]。迄今为止,I型经典钙黏蛋白主要由4个成员组成,分别为上皮钙黏蛋白(E-cadherin)、神经钙黏蛋白(N-cadherin)、胎盘钙黏蛋白(P-cadherin)和视网膜钙黏蛋白(R-cadherin);而II型钙黏蛋白主要为Cadherin-6、Cadherin-7、Cadherin-8和Cadherin-10等^[2]。根据组织的分布的不同,该超家族又可以划分为表皮钙黏蛋白(E-cadherin/CDH1)、神经钙黏蛋白(N-cadherin/CDH2)、胎盘钙黏蛋白(P-cadherin/CDH3)、视网膜钙黏蛋白(R-cadherin/CDH4)、血管表皮钙黏蛋白(VE-cadherin/CDH5)、肾钙黏蛋白(K-cadherin/CDH6)以及肌肉钙黏蛋白(M-cadherin/CDH15)等^[3]。在结构和功能上这些钙黏蛋白是高度多样化的,通过它们之间的相互作用,可以影响复杂的多途径生物反应^[4]。

N-cadherin分子,由位于18号染色体长臂1区2带1亚带的250 Kb区域所编码,由16个外显子组成,人与小鼠、蜥蜴、鸡等物种中N-cadherin有较高的同源性^[5]。N-cadherin是所有钙黏蛋白中研究最深入的一种,是I型经典钙黏蛋白,结构上由五个胞外结构域、一个跨膜区和一个胞内结构域组成,介

导神经细胞及其他多种类型细胞的粘附^[6-8]。

1.2 N-钙黏蛋白的正常功能

N-cadherin是一种细胞粘附分子,具有钙依赖性,在细胞连接中,N-钙黏蛋白的作用尤为显著。研究表明,N-钙黏蛋白的缺失或功能异常会导致细胞连接的破坏,进而影响组织的完整性和功能。例如,在皮肤细胞中,N-钙黏蛋白的缺失会导致皮肤屏障功能的减弱,使得皮肤容易受到外界环境的侵害^[9]。N-cadherin分子可以促进细胞的运动和迁移,而细胞迁移是一个重要的和高度调节的过程,在发育过程中,神经胶质细胞和神经元长距离迁移-在大多数情况下是集体迁移以到达其最终目的地并构建神经系统的复杂结构。集体迁徙是高度定型和高效的,这一过程中的缺陷导致严重的人类疾病,包括智力迟钝。这个动态过程需要广泛的细胞通信和协调。升高的N-钙黏蛋白导致细胞表面 β -连环蛋白水平升高,引起由Wnt/ β -连环蛋白介导的信号,将 β -catenin固定在细胞表面而受到抑制,阻止其进入细胞核。这减少了Wnt/ β -catenin靶基因的表达,最终减缓了胶质瘤干细胞的增殖并抑制了它们的神经分化^[10]。在果蝇翅膀的胶质外周细胞中,N-cadherin负向控制神经胶质细胞的迁移过程,包括迁移的起始和速度,即当钙黏蛋白的数量增加时,CYFIP基因所属的ARP2/3复合物对肌动蛋白网络的连续组装减少,神经胶质细胞的迁移效率降低。相反,钙黏蛋白的消耗会导致细胞膜上的 α -catenin的减少,从而增强肌动蛋白的分支和神经胶质细胞的运动性^[11]。

在哺乳动物大脑的突触中,持续的信息传递需要突触囊泡的胞外和胞内作用之间的稳态耦合的长期维持。由于经典的胞吞作用比囊泡的毫秒级胞吐作用慢几个数量级,因此高频囊泡融合可能潜在地损害突触的结构稳定性。然而,介导胞外作用

和内吞作用紧密结合的分子机制在很大程度上是未知的。N-钙黏蛋白的表达增强了囊泡的外吞和内吞。对N-钙黏蛋白敲除神经元的进一步详细分析显示,N-钙黏蛋白对内吞作用的促进在很大程度上依赖于先前高水平的囊泡释放活性。总之,囊泡内吞作用的调节在分子水平上由N-钙黏蛋白以释放活性依赖的方式介导。N-cadherin具有促进细胞内吞的功能,可能在囊泡外泌与内吞的偶联过程中扮演着重要角色。N-钙黏蛋白的表达会增强功能性突触的囊泡外吞和内吞。N-钙黏蛋白缺乏导致高释放活性的囊泡内吞作用受损^[12]。

还有一个与CDH2有关的细胞过程,那就是细胞死亡。在生理条件下,适当的细胞间黏附可以维持下游的生存途径,并维持细胞的生长和健康。体外证据表明,基于CDH2的黏附连接稳定多个抗凋亡分子的表达,如B细胞淋巴瘤蛋白2(B-cell lymphoma 2, bcl2),或细胞外调节蛋白激酶1/2(extracellular regulated protein kinases, ERK1/2),丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)等。CDH2介导的细胞间连接不仅促进细胞骨架向迁移表型的转变,而且还作为支持生存的因子^[13]。

CDH2在成人睾丸的支持细胞中比精原细胞更丰富,也存在于精子细胞中。它在睾丸发育各阶段均定位于塞尔托利氏细胞(Sertoli-Sertoli)细胞连接处,并在未成熟和成年睾丸的细胞连接处均可检测到。CDH2对细胞间同型结合和组织完整性至关重要,其抗体可阻止生殖细胞与Sertoli细胞结合。CDH2敲除导致胚胎缺陷和早期致死,但生殖细胞特异性敲除对睾丸结构无影响,而体细胞敲除则破坏性腺结构,减少生殖细胞和间质细胞群,导致曲细精管缺陷。CDH1和CDH2敲除小鼠具有共同表型:生殖细胞凋亡。血睾屏障(blood testis barrier, BTB)是支持细胞间形成的特殊结构,对生殖细胞移动至关重要。N-钙黏蛋白在此过程中被内吞并再循环。支持细胞特异性敲除CDH2影响BTB功能,延迟减数分裂,增加生殖细胞凋亡。总之,CDH2在支持细胞中的表达对BTB结构和功能至关重要,确保正常精子发生^[13-14]。

2 N-钙黏蛋白的N-糖基化修饰调控

N-cadherin存在许多种翻译后修饰,比如甲基化、糖基化等。N-cadherin最重要的翻译后修饰是N-糖基化,这是许多糖基转移酶作用的结果。对表达N-cadherin犬肾细胞细胞系的研究表明:细胞用N-糖基化抑制剂衣霉素或用O-糖基化抑制剂BAG处理,仅在衣霉素处理后显示较低分子量的N-cadherin^[15]。N-cadherin的功能受N-乙酰氨基葡萄糖转移酶V(N-acetylglucosamine transferase V, GnT-V)表达水平的调节,这是一种在糖蛋白生物合成过程中对多天线N-聚糖合成起作用的糖基转移酶,GnT-V催化N-聚糖上 $\beta(1,6)$ -支链N-乙酰氨基葡萄糖的形成^[16]。这意味着N-cadherin在这些细胞中是N-糖基化的,而不是O-糖基化。N-cadherin包含八个预测的N-连接的糖基化位点,利用siRNA沉默GnT-V基因和定点突变糖基化位点策略鉴定出3个N-cadherin可能的N-糖基化位点,分别为EC2中的Asn207和Asn325,EC3中的Asn402。异常的N-糖基化影响N-cadherin的定位和稳定性、细胞间粘附和细胞内信号转导,导致肿瘤进展和转移^[17]。

在神经胶质瘤中,只有N-cadherin的N402位点的N-糖基化控制N-cadherin的稳定性,并在神经胶质瘤迁移中起作用。N402的N-聚糖是由 $\beta-1,6$ -GlcNAc分支形成的。在胶质瘤细胞系U251和A172细胞中,抑制N402的N-糖基化促进N-cadherin蛋白酶体降解而不影响其mRNA水平^[18]。

3 N-钙黏蛋白与疾病机制的研究

3.1 N-钙黏蛋白与肿瘤发生发展的关系

N-cadherin在神经细胞、内皮细胞、肌细胞和造血干细胞等细胞中都有表达^[19]。癌症EMT的标志是N-cadherin的上调以及E-cadherin的下调,这种“钙黏蛋白开关”与增强的迁移和侵袭特性相关,导致较差的患者存活率,包括胆管癌和乳腺癌等。在乳腺癌中,N-cadherin与成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)相互作用,激活MEK/MAPK信号通路,诱导基质金属蛋白

酶-9(matrix metalloproteinase, MMP-9)表达,从而促进了肿瘤侵袭转移。而在膀胱癌、恶性黑色素瘤和前列腺癌中,N-cadherin 则通过激活磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase, protein kinase B, PKB/Akt)信号通路促进肿瘤细胞侵袭,同时抑制肿瘤细胞的凋亡,提高肿瘤细胞的存活率。此外,N-钙黏蛋白的胞内区还参与调控多种信号通路,如Wnt信号通路和MAPK信号通路,这些信号通路在细胞增殖、分化与细胞凋亡等过程中发挥重要作用^[20-22]。

钙黏蛋白在组织稳态中起着重要的作用,因为它们参与胚胎发生、组织形态发生、分化和癌变过程中负责细胞与细胞之间的粘附。钙黏蛋白与连环蛋白连接,形成钙黏蛋白-连环蛋白复合物,这对细胞间的粘附至关重要。钙黏蛋白-连环蛋白复合物的任何功能障碍或不稳定都可能导致肿瘤的进展。上皮细胞间充质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)在肿瘤进展过程中表达缺失的一种机制。然而,在肿瘤发生过程中发生了许多改变,其中E-钙黏蛋白、核 β -连环蛋白和p120连环蛋白信号通路的下调是最关键的;其他的信号通路,如受体酪氨酸激酶、Rho GTP酶、PI3K和Hippo影响钙黏蛋白细胞与细胞粘附,也有助于肿瘤的进展和转移。在肿瘤发生过程中,许多信号通路可能被激活;因此,针对钙黏蛋白的靶向药物似乎可以限制恶性肿瘤的进展^[23]。

在癌症中,任何细胞与细胞,以及细胞与基质粘附的紊乱,都与肿瘤进展有关,使癌细胞变得更活跃,降解细胞外基质,进入血管并形成远处转移灶^[24-25]。信号激活发生在钙黏蛋白和连环蛋白相互作用的位置。因此,钙黏蛋白的连环蛋白结合域在钙黏蛋白的功能中至关重要,并在维持上皮细胞的完整性方面起着重要作用。比如说,E-钙黏蛋白或 β -连环蛋白的磷酸化会影响 β -连环蛋白与钙黏蛋白的结合,而 β -连环蛋白的磷酸化也可能导致 α -连环蛋白与钙黏蛋白- β -连环蛋白复合物的结合等^[26]。

3.2 N-钙黏蛋白与神经系统疾病的关系

N-钙黏蛋白在神经退行性疾病中的角色日益

受到科学界的关注。研究表明,N-钙黏蛋白作为细胞间连接的重要分子,在神经元的粘附、迁移和突触形成中发挥着关键作用。在神经退行性疾病如阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)和帕金森病(Parkinson's disease, PD)中,N-钙黏蛋白的异常表达和功能失调被认为是疾病进展的重要因素之一。此外,N-钙黏蛋白还参与神经元的迁移和分化过程,这对于神经系统的正常发育和维持至关重要。在神经退行性疾病中,N-钙黏蛋白的功能失调可能导致神经元迁移和分化异常,进而引发神经元的死亡和神经网络的破坏。例如,在PD的研究中,研究人员发现N-钙黏蛋白的异常表达与多巴胺能神经元的死亡和神经纤维的退化密切相关^[27-29]。随着分子生物学和细胞生物学的快速发展,N-钙黏蛋白的功能研究取得了显著进展,为理解肿瘤转移、神经退行性疾病等提供了重要线索。因此,有必要深入研究N-钙黏蛋白与疾病之间的关系(表1)。

4 N-钙黏蛋白在细胞信号转导中的作用

N-钙黏蛋白在细胞生物学中扮演着至关重要的角色,特别是在细胞信号转导过程中。近年来,越来越多的研究揭示了N-钙黏蛋白与信号分子之间复杂的相互作用。这些相互作用影响着细胞内的信号传递,调控细胞的生理和病理过程。N-钙黏蛋白通过与多种信号分子的相互作用,参与调控了多种细胞功能。例如,N-钙黏蛋白与 β -catenin的相互作用是Wnt信号通路中的一个关键步骤。Wnt信号通路在胚胎发育、细胞增殖和分化等过程中发挥着重要作用。有研究表明,N-钙黏蛋白与 β -catenin的结合能够稳定 β -catenin在细胞内的水平,N-钙黏蛋白与 β -catenin的相互作用能够激活Wnt信号通路,进而调控细胞的增殖和分化。这一发现不仅揭示了N-钙黏蛋白在信号转导中的作用,也为相关疾病的治疗提供了新的思路^[30]。

此外,N-钙黏蛋白还参与了其他多种信号通路的调控。例如,在FGFR信号通路中,N-钙黏蛋白通过与FGFR的相互作用,影响了FGFR的磷酸

表 1 不同细胞中 N-钙黏蛋白的表达情况
Table 1 Expression of N-cadherin in different cells

Cell type	Expression situation	Observed effect
Nervous tissues	Widely expressed	Mediated cell-cell adhesion in the nervous tissues
Glial cells	Increased N-cadherin levels	Reduced cell migration efficiency
	Decreased N-cadherin levels	Enhanced actin branching and cellular motility.
Synaptic structures within the brains of mammals	Expression of N-cadherin	Extracellular and endocytosis of functional synapses were enhanced
	Deficiency of N-cadherin	
Germ cells	Specific knockout of N-cadherin	No effect on testicular structure
Tumor cells	Abnormal increase of N-cadherin	Promoted cell invasion and migration ability

化水平和下游信号分子的活性。这一发现进一步证明了 N-钙黏蛋白在信号转导中的广泛作用。同时,也为研究 N-钙黏蛋白在肿瘤等疾病中的功能提供了新的方向。此外,N-钙黏蛋白还能够与类固醇受体辅激活因子(steroid receptor coactivator, Src)激酶家族成员相互作用,通过调节 Src 的活性来影响细胞的生长和分化。Wnt 信号通路与 β -catenin 核易位相关,T 细胞因子或者淋巴增强因

子介导的肿瘤侵袭和转移分子都会被 β -catenin 所激活。N-cadherin 与 p120-catenin、 α -catenin 和 β -catenin 结合成复合体,并与肌动蛋白细胞骨架相结合。N-cadherin- β -catenin 复合体位于肿瘤细胞中并发生降解的时候, β -catenin 解离之后转位进入到癌细胞的核内,激活 T 细胞因子或者淋巴增强因子介导的基因转录,比如 CD44 和 MMPs 等,从而促进肿瘤转移(图 1)^[31]。

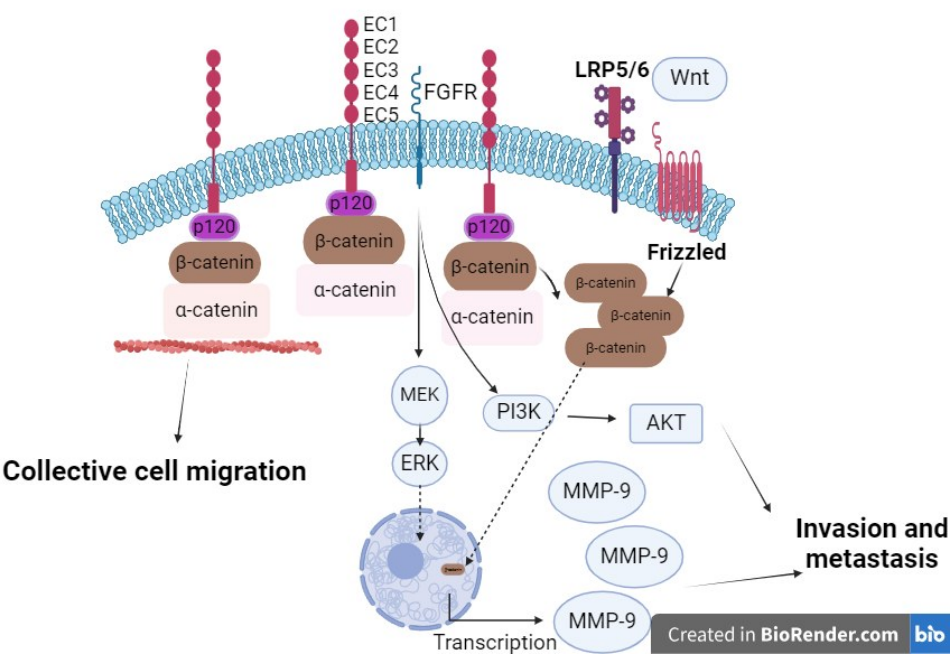


图 1 N-cadherin 通过多种途径促进肿瘤转移
Fig. 1 N-cadherin promotes tumor metastasis through multiple pathways

钙黏蛋白在质膜上可能发生蛋白水解裂解,这一过程通常被称为钙黏蛋白“脱落”或“切割”而切割片段仍可发生生理作用^[32]。N-cadherin 先后两次被切割,过程与其他经典钙黏蛋白成员一致;第一次切割中全长 135 ku 的 N-cadherin 胞外结构域被某些 MMPs、ADAM10 切割产生可溶性片段 NTF 和 CTF1(45 ku);CTF1 被位于近膜区域的 PS1 复合体进一步切割,产生 CTF2(35 ku)片段及游离的 β -catenin 释放到细胞质中,切割产生的 CTF2 可在胞质结构域的 801-812 位点与 β -catenin 结合(图 2)。目前对 N-cadherin 的切割位点已经明确,胞外端的切割发生在 714 位精氨酸和 715 位异亮氨酸之间,胞内端 PS1 的切割位点在 747 位赖氨酸和 748 位精氨酸之间^[33]。NTF 和 CTF2 片段参与不同的细胞信号通路。CTF2 作为转录调控因子,促进 β -catenin 介导的靶基因表达,如细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)编码基因^[34],并通过触发 CBP 蛋白降解抑制 CBP/CREB 介导的转录^[35]。NTF 通过成纤维细胞生长因子受体依赖性激活刺激神经生长^[36],它可以增加内皮细胞的迁移和血管生成^[37],以及内皮细胞和血管平滑肌细胞的存活^[38]。此外文献报道,N-cadherin 的胞外区酶切时,会生成 90 ku 的片段,实验证明其会促进血管生成,刺激内皮细胞的迁移,引起细胞外调节激酶的磷酸化^[39]。此外这种可溶片段在正常人中低表达,而前列腺癌、乳腺癌和膀胱癌患者的血清中高表达^[31,40-41]。

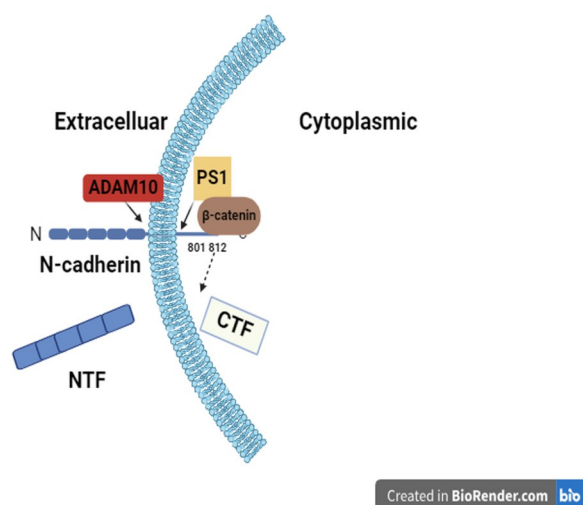


图2 N-cadherin切割示意图

Fig. 2 Schematic diagram of N-cadherin cutting

5 N-钙黏蛋白的临床应用前景

5.1 N-钙黏蛋白抑制剂在肿瘤转移中的作用

针对 N-钙黏蛋白在肿瘤转移中的作用,科学家们正在积极探索靶向 N-钙黏蛋白的治疗策略。例如,通过开发针对 N-钙黏蛋白的特异性抗体或抑制剂,可以阻断 N-钙黏蛋白的功能,从而抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭能力^[42]。已经发现了几种类型的 N-钙黏蛋白拮抗剂。三种类型的拮抗剂基于 CAR 序列 His-Ala-Val(HAV):合成线性肽、合成环肽和非肽基肽模拟物^[43]。这种含有 HAV 序列的环肽,称作 ADH-1 或 Exherin,最近被开发出来并成功应用于临床试验,在胰腺癌和黑色素瘤小鼠模型中破坏 N-cadherin 附着,从而抑制细胞迁移和转移。通过研究 N-cadherin 与其著名的抑制剂 ADH-1 的结合模式,并确定了在 ADH-1 分子植入到 N-cadherin 结合位点中起重要作用的氨基酸残基。在先前的计算机模拟研究中,在深入分析 N-钙黏蛋白/ADH-1 相互作用后,筛选出了 FDA 批准的可作为 N-钙黏蛋白潜在的抑制剂小分子^[44-45]。

ADH-1 是一种小型环状五肽血管靶向剂,具有潜在的抗肿瘤和抗血管生成活性。ADH-1 选择性地、竞争性地结合并阻断 N-钙黏蛋白,这可能导致肿瘤血管系统的破坏、肿瘤细胞生长的抑制以及肿瘤细胞和内皮细胞凋亡的诱导。ADH-1(Med Chem Express, Shanghai, China),是一种 N-钙黏蛋白拮抗剂,抑制 EGFR 介导的肿瘤球增大;ADH-1 具有较高的特异性和耐受性。His-Ala-Val(HAV)(组氨酸-丙氨酸-缬氨酸)基序首次显示作为 N-钙黏蛋白拮抗剂起作用,并且研究最多的环肽是 N- β -Ac- β -CHAVC- β -NH₂(命名为 ADH-1)。短的环状 HAV 肽可以抑制 N-钙黏蛋白的功能,侧接 HAV 基序的氨基酸的性质决定了肽的活性和特异性。例如,当 HAV 基序侧接单个天冬氨酸时,其模拟 N-钙黏蛋白的天然 HAVD 序列,该肽成为 N-钙黏蛋白功能的有效得多的抑制剂。相反,当 HAV 基序的侧翼是一个丝氨酸时,它模拟了 E-钙黏蛋白的天然 HAVS 序列,失去了抑制 N-钙黏蛋白反应的能力。HAV 基序存在于所有经典的钙黏蛋白中,不言而喻,其本身不能解释钙黏蛋白的特异性。

一种可能性是HAV序列是所有经典钙黏蛋白的主要结合基序,并且选择性由侧翼氨基酸决定,其在经典钙黏蛋白中不同;ADH-1可以抑制N-钙黏蛋白(一种EMT的标记物)的功能^[46]。

5.2 N-钙黏蛋白在疾病诊断与治疗中的应用

在N-钙黏蛋白的研究中,诊断方法的开发与优化对于疾病的早期发现和治疗至关重要。近年来,随着生物技术的飞速发展,针对N-钙黏蛋白的诊断方法也取得了显著进展。例如,通过免疫组化技术,研究人员能够准确检测组织样本中N-钙黏蛋白的表达水平,为肿瘤的诊断提供有力依据。此外,基于N-钙黏蛋白的特异性抗体,开发出了多种高灵敏度的免疫检测方法,如酶联免疫吸附测定(ELISA)和免疫荧光技术,这些方法在肿瘤标志物筛查和疾病诊断中发挥了重要作用。

使用酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(INTRON Bioneovan Co Ltd)测量血清中E-cadherin和N-cadherin的水平。使用ELISA PR 4100吸光度微孔板读数仪将450 nm吸光度数据处理成标准曲线,从中得出E-cadherin和N-cadherin的浓度^[47]。根据制造商的说明(R&D Systems;Minneapolis,MN),使用市售的ELISA试剂盒对细胞培养上清液中的TNF- α 、MMP-9、IL-6(interleukin-6)和MCP-1(monocyte chemotactic protein-1)蛋白浓度进行定量分析^[48]。此外,针对N-钙黏蛋白的胞外部分,可以使用小鼠GC-4抗体(Sigma, St. Louis, MO)进行了ELISA、免疫沉淀和免疫印迹的工作^[39]。

总之,靶向N-钙黏蛋白的治疗策略在肿瘤治疗中具有广阔的应用前景。通过深入研究N-钙黏蛋白的结构和功能,以及其与疾病发生发展的关系,我们可以开发出更加有效、安全的治疗药物和方法,为肿瘤患者带来更好的治疗效果和生活质量。

6 结论与展望

N-钙黏蛋白作为细胞连接的关键分子,在细胞生物学与疾病机制的研究中倍受重视。近年来,随着科研技术的不断进步,对N-钙黏蛋白的研究取得了显著进展。从细胞粘附与迁移、信号转导到

细胞增殖与分化,N-钙黏蛋白在多个生物学过程中均发挥着重要作用。例如,在细胞粘附机制的研究中,科学家们发现N-钙黏蛋白通过其特定的结构域与相邻细胞形成稳定的连接,从而维持组织的完整性和稳定性^[49]。而在细胞迁移与侵袭的调控中,N-钙黏蛋白的异常表达往往与肿瘤细胞的转移能力密切相关。此外,N-钙黏蛋白还参与了细胞信号转导过程,通过与多种信号分子的相互作用,影响细胞的生长、分化和凋亡等生物学过程^[50-51]。

在疾病机制的研究中,N-钙黏蛋白的异常表达与多种疾病的发生发展密切相关。以肿瘤为例,多项研究表明,N-钙黏蛋白在多种肿瘤组织中呈现高表达状态,且其表达水平与肿瘤的恶性程度、转移能力和耐药性密切相关^[52]。例如,在乳腺癌和肺癌等恶性肿瘤中,N-钙黏蛋白的高表达往往伴随着肿瘤细胞的侵袭和转移能力的增强。此外,N-钙黏蛋白还与神经系统疾病等多种疾病的发生发展密切相关^[53-56]。在神经退行性疾病中,N-钙黏蛋白的异常表达可能导致神经元之间的连接受损,从而影响神经系统的功能。

在N-钙黏蛋白的研究中,科学家们采用了多种研究方法和技术手段。所以未来的研究方向可以从以下几个方面考虑:

①深入解析N-cadherin与其他分子的相互作用

未来研究可以进一步解析N-cadherin与 β -catenin、DCC等分子的相互作用机制,以及这些相互作用如何共同调控神经元的迁移、突触形成和突触可塑性。通过揭示这些分子网络的复杂性和动态性,有助于我们更全面地理解N-cadherin在神经系统疾病中的作用。

②N-cadherin与EMT的分子调控机制

进一步深入研究N-cadherin在EMT过程中的具体分子机制和信号通路,特别是其与其他EMT相关分子(如E-cadherin、Snail、Slug等)的相互作用关系,有望为揭示肿瘤侵袭与转移的分子基础提供新线索。

③N-cadherin与肿瘤微环境的关系

肿瘤微环境是肿瘤生长和转移的重要场所。

研究 N-cadherin 与肿瘤微环境中其他成分(如成纤维细胞、免疫细胞、血管等)的相互作用关系,有助于揭示肿瘤与宿主相互作用的复杂机制。还可以通过调节 N-cadherin 的表达或功能来改造肿瘤微环境,为肿瘤治疗创造有利条件。

总之,N-钙黏蛋白作为细胞连接和信号转导的重要分子,在细胞生物学和疾病机制中发挥着重要作用。未来,随着技术的不断进步和研究的深入,我们有望更全面地揭示其生物学功能,为疾病的诊断和治疗提供新的思路和方法。

参考文献

- [1] Hulpiau P, Van Roy F. Molecular evolution of the cadherin superfamily [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41 (2) : 349-369.
- [2] 于亚楠,刘彦礼,徐振平,等. 视网膜钙黏蛋白在中枢神经系统发育中的作用研究现状[J]. *新乡医学院学报*, 2015, 32(9): 804-806.
Yu YN, Liu YL, Xu ZP, et al. The role of retinal cadherin in central nervous system development [J]. *Xinxiang Med J*, 2015, 32 (9) : 804-806.
- [3] 杨淑凤,邓国英,刘欣,等. 钙黏蛋白糖基化修饰的研究进展[J]. *生物学杂志*, 2016, 33(2): 100-102.
Yang SF, Deng GY, Liu X, et al. Research progress in cadherin glycosylation modification [J]. *Chin J Bio*, 2016, 33 (2) : 100-102.
- [4] Van Roy F. Beyond E-cadherin: roles of other cadherin superfamily members in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14 (2): 121-134.
- [5] Wallis J, Fox MF, Walsh FS. Structure of the human N-cadherin gene: YAC analysis and fine chromosomal mapping to 18q11.2[J]. *Genomics*, 1994, 22(1): 172-179.
- [6] Hatta K, Nose A, Nagafuchi A, et al. Cloning and expression of cDNA encoding a neural calcium-dependent cell adhesion molecule: its identity in the cadherin gene family [J]. *J Cell Biol*, 1988, 106(3): 873-881.
- [7] Harrison OJ, Jin X, Hong S, et al. The extracellular architecture of adherens junctions revealed by crystal structures of type I cadherins [J]. *Structure*, 2011, 19 (2) : 244-256.
- [8] Blaschuk OW, Devemy E. Cadherins as novel targets for anti-cancer therapy [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 625 (1-3) : 195-198.
- [9] Sun Y, Jing J, Xu H, et al. N-cadherin inhibitor creates a microenvironment that protect TILs from immune checkpoints and Treg cells[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9-12.
- [10] Osuka S, Zhu D, Zhang Z, et al. N-cadherin upregulation mediates adaptive radioresistance in glioblastoma [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131-137.
- [11] Kumar A, Gupta T, Berzsenyi S, et al. N-cadherin negatively regulates collective Drosophila glial migration through actin cytoskeleton remodeling [J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(5): 900-912.
- [12] Van Stegen B, Dagar S, Gottmann K. Release activity-dependent control of vesicle endocytosis by the synaptic adhesion molecule N-cadherin [J]. *Sci Rep*, 2017, 40865-40872.
- [13] Nguyen HT, Martin LJ. Classical cadherins in the testis: how are they regulated? [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2023, 35 (14) : 641-660.
- [14] Cai Z, Zhang Y, Yang L, et al. ALKBH5 in mouse testicular Sertoli cells regulates Cdh2 mRNA translation to maintain blood-testis barrier integrity [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27 (1): 101-116.
- [15] Youn YH, Hong J, Burke JM. Cell phenotype in normal epithelial cell lines with high endogenous N-cadherin: comparison of RPE to an MDCK subclone [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(6): 2675-2685.
- [16] Guo HB, Lee I, Kamar M, et al. N-acetylglucosaminyltransferase V expression levels regulate cadherin-associated homotypic cell-cell adhesion and intracellular signaling pathways [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(52): 52412-52424.
- [17] Guo HB, Johnson H, Randolph M, et al. Regulation of homotypic cell-cell adhesion by branched N-glycosylation of N-cadherin extracellular EC2 and EC3 domains [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(50): 34986-34997.
- [18] Xu Y, Chang R, Xu F, et al. N-glycosylation at Asn 402 stabilizes N-Cadherin and promotes cell-cell adhesion of glioma cells [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(6): 1423-1431.
- [19] Derycke LD, Bracke ME. N-cadherin in the spotlight of cell-cell adhesion, differentiation, embryogenesis, invasion and signalling [J]. *Int J Dev Biol*, 2004, 48(5-6): 463-476.
- [20] Hazan RB, Phillips GR, Qiao RF, et al. Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion, and metastasis [J]. *J Cell Biol*, 2000, 148(4): 779-790.

- [21] Suyama K, Shapiro I, Guttman M, et al. A signaling pathway leading to metastasis is controlled by N-cadherin and the FGF receptor[J]. *Cancer Cell*, 2002, 2(4): 301-314.
- [22] 占大钱. N-cadherin在肝癌侵袭转移中的作用及其机制研究[D], 2011.
Zhan DQ. Role of N-cadherin in invasion and metastasis of liver cancer and its mechanism [D], 2011.
- [23] Kaszak I, Witkowska-Piłaszewicz O, Niewiadomska Z, et al. Role of cadherins in cancer – a review [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21-41.
- [24] Sousa B, Pereira J, Paredes J. The crosstalk between cell adhesion and cancer metabolism [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20-28.
- [25] Tanaka T, Iino M, Goto K. Knockdown of Sec6 improves cell-cell adhesion by increasing α -E-catenin in oral cancer cells [J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(6): 924-933.
- [26] Kourtidis A, Lu R, Pence LJ, et al. A central role for cadherin signaling in cancer [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 358(1): 78-85.
- [27] Punovuori K, Malaguti M, Lowell S. Cadherins in early neural development [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(9): 4435-4450.
- [28] Yang C, Shi Y, Li X, et al. Cadherins and the pathogenesis of epilepsy [J]. *Cell Biochem Funct*, 2022, 40(4): 336-348.
- [29] Halperin D, Stavsky A, Kadir R, et al. CDH2 mutation affecting N-cadherin function causes attention-deficit hyperactivity disorder in humans and mice [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1-19.
- [30] Feng Q, Xuezheng S, Haipeng L, et al. Effect of N-cadherin on chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells through Wnt signaling pathway [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2022, 67(6): 249-259.
- [31] 李雄峰, 程海东, 莎仁高娃, 等. N-cadherin的作用及其作为肿瘤治疗靶点的展望[J]. *中国细胞生物学学报*, 2023, 45(2): 317-325.
Li XF, Cheng HD, Sha RGW, et al. The role of N-cadherin and its prospect as a tumor therapeutic target [J] *Cell Biol J*, 2023, 45(2): 317-325.
- [32] Xiang W, Li L, Hong F, et al. N-cadherin cleavage: a critical function that induces diabetic retinopathy fibrosis via regulation of β -catenin translocation [J]. *Faseb J*, 2023, 37-41.
- [33] Uemura K, Kihara T, Kuzuya A, et al. Characterization of sequential N-cadherin cleavage by ADAM10 and PS1 [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 402(3): 278-283.
- [34] Uemura K, Kihara T, Kuzuya A, et al. Activity-dependent regulation of beta-catenin via epsilon-cleavage of N-cadherin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 345(3): 951-958.
- [35] Barbaud A, Lascombe I, Péchery A, et al. GW501516-mediated targeting of tetraspanin 15 regulates ADAM10-dependent N-cadherin cleavage in invasive bladder cancer cells [J]. *Cells*, 2024, 708-728.
- [36] Utton MA, Eickholt B, Howell FV, et al. Soluble N-cadherin stimulates fibroblast growth factor receptor dependent neurite outgrowth and N-cadherin and the fibroblast growth factor receptor co-cluster in cells [J]. *J Neurochem*, 2001, 76(5): 1421-1430.
- [37] Derycke L, Morbidelli L, Ziche M, et al. Soluble N-cadherin fragment promotes angiogenesis [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2006, 23(3-4): 187-201.
- [38] Lyon CA, Johnson JL, Williams H, et al. Soluble N-cadherin overexpression reduces features of atherosclerotic plaque instability [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(2): 195-201.
- [39] Derycke L, De Wever O, Stove V, et al. Soluble N-cadherin in human biological fluids [J]. *Int J Cancer*, 2006, 119(12): 2895-2900.
- [40] Nagi C, Guttman M, Jaffer S, et al. N-cadherin expression in breast cancer: correlation with an aggressive histologic variant-invasive micropapillary carcinoma [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2005, 94(3): 225-235.
- [41] Rieger-Christ KM, Cain JW, Braasch JW, et al. Expression of classic cadherins type I in urothelial neoplastic progression [J]. *Hum Pathol*, 2001, 32(1): 18-23.
- [42] Blaschuk OW. Potential therapeutic applications of N-cadherin antagonists and agonists [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 866200-866213.
- [43] Blaschuk OW. N-cadherin antagonists as oncology therapeutics [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2015, 370(1661): 20140039-20140042.
- [44] Khajeh S, Eslami M, Nezafat N, et al. Surveying FDA-approved drugs as new potential inhibitors of N-cadherin protein: a virtual screening approach [J]. *Structural Chemistry*, 2020, 31(6): 2355-2369.
- [45] Yakovlev S, Tjandra N, Strickland DD, et al. Identification of neural (N)-cadherin as a novel endothelial cell receptor for fibrin and localization of the complementary binding sites [J]. *Biochemistry*, 2024, 63(2): 202-211.
- [46] Williams E, Williams G, Gour BJ, et al. A novel family of

- cyclic peptide antagonists suggests that N-cadherin specificity is determined by amino acids that flank the HAV motif[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(6): 4007-4012.
- [47] Omran NM, El-Sherbini SM, Hegazy O, et al. Crosstalk between miR-215 and epithelial-mesenchymal transition specific markers (E-cadherin and N-cadherin) in different stages of chronic HCV Infection[J]. *J Med Virol*, 2020, 92(8): 1231-1238.
- [48] Conant K, Daniele S, Bozzelli PL, et al. Matrix metalloproteinase activity stimulates N-cadherin shedding and the soluble N-cadherin ectodomain promotes classical microglial activation [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 56-67.
- [49] Greer SE, Haller SJ, Lee D, et al. N-cadherin and β 1 integrin coordinately regulate growth plate cartilage architecture[J]. *Mol Biol Cell*, 2024, 35-39.
- [50] Xiao Y, Zhou L, Andl T, et al. YAP1 controls the N-cadherin-mediated tumor-stroma interaction in melanoma progression[J]. *Oncogene*, 2024, 43(12): 884-898.
- [51] Wang L, Li S, Luo H, et al. PCSK9 promotes the progression and metastasis of colon cancer cells through regulation of EMT and PI3K/AKT signaling in tumor cells and phenotypic polarization of macrophages [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 303-323.
- [52] 李雅睿,郭丹,陈映菲,等. 小核糖体核蛋白B对肝癌细胞增殖与转移的调控作用[J]. *中华肝脏病杂志*, 2022, 30(1):63-68.
- Li YR, Guo D, Chen YF, et al. Regulatory effect of small nuclear ribonucleoprotein-associated protein B on proliferation and metastasis of liver cancer cells [J]. *Chin J Hepatol*, 2022,30(1):63-68.
- [53] Alexander JM, Vazquez-Ramirez L, Lin C, et al. Inhibition of GSK3 α , β rescues cognitive phenotypes in a preclinical mouse model of CTNNB1 syndrome [J]. *EMBO Mol Med*, 2024, 16(9): 2109-2131.
- [54] László ZI, Lele Z. Flying under the radar: CDH2 (N-cadherin), an important hub molecule in neurodevelopmental and neurodegenerative diseases [J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 972059-972079.
- [55] Wang SH, Celic I, Choi SY, et al. Dlg5 regulates dendritic spine formation and synaptogenesis by controlling subcellular N-cadherin localization [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(38): 12745-12761.
- [56] 蒋雯,梅松,李海江,等. 意向性运动干预影响局部脑缺血大鼠 GLUA2 和 N-cadherin 表达的影响[J]. *昆明医科大学学报*, 2022, 43(3): 21-26.
- Jiang W, Mei S, Li HJ, et al. The effect of intentional movement intervention on the expression of GLUA2 and N-cadherin in local cerebral ischemia rats[J]. *J Kunming Med*, 2022, 43(3): 21-26.

(编辑 孙慧兰)