

文章编号: 1004-0374(2009)04-0517-07

## Reticulons家族蛋白研究进展

周金武, 程肖蕊, 周文霞\*, 张永祥

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

**摘要:** Reticulons (RTNs)蛋白是一类广泛存在于真菌、植物及动物等真核生物的膜蛋白, 主要定位于内质网, 尤其是管状内质网, 原核生物中至今尚未发现其同系物。哺乳动物基因组中有RTN1、RTN2、RTN3及RTN4共四类相互独立的基因, 因启动子及选择性剪接方式不同每个基因可产生不同转录本。RTNs家族成员氨基端序列高度可变且大小显著不同, 羧基端的约200个氨基酸残基则高度保守, 被称为内质网蛋白同源结构域(reticulon-homology domain, RHD)。RTNs高度可变的氨基端赋予其各成员物种特异性及细胞特异性的功能, 羧基端的RHD则是其执行基本细胞功能的基础。越来越多的研究结果表明, RTNs可参与蛋白转运、参与膜结构形态发生或稳定及细胞分裂、构成内质网膜通道或转运体、调节细胞凋亡、调节 $\beta$ 分泌酶( $\beta$ -site APP cleaving enzyme 1, BACE1)活性及抑制神经再生等。该文就RTNs家族各成员基因和蛋白的结构特性以及功能特点的研究进展进行简要综述。

**关键词:** reticulons (RTNs); 拓扑结构; 蛋白转运;  $\beta$ 分泌酶; 神经再生

中图分类号: Q51 文献标识码: A

## The progress of the study on reticulons protein family

ZHOU Jin-wu, CHENG Xiao-rui, ZHOU Wen-xia\*, ZHANG Yong-xiang

(Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100850, China)

**Abstract:** Reticulons (RTNs), predominantly associated with endoplasmic reticulum (ER), especially tubular ER, widely exist as a family of membrane-bound proteins in eukaryotic organisms including fungi, plants and animals, but no homologues have been identified in prokaryotes so far. There are four independent RTN genes, such as RTN1, RTN2, RTN3 and RTN4 in mammalian genome, and each of them produces a range of transcripts due to differential promoter usage and/or alternative splicing. All RTNs share a highly conserved C-terminal reticulon homology domain (RHD) of 200 or so amino-acid residues whereas the N-terminal regions are highly variable in sequence and length. It is the variability in N-terminus and the conservation in C-terminus of RTNs that confers species/cell-specific functions and a common cellular function to each member respectively. Many studies indicated that RTNs participate in protein trafficking and membrane structural morphogenesis or stabilization, play a role in cell division, form channels or transporters in ER, regulate apoptosis, modulate BACE1 negatively, inhibit neuron regeneration and so on. So this review focuses on the recent progress in the structure and functions of RTN genes and proteins.

**Key words:** reticulons (RTNs); topological structure; protein trafficking; BACE1 ( $\beta$ -site APP cleaving enzyme 1); neuron regeneration

收稿日期: 2009-04-23; 修回日期: 2009-06-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(90709012; 30772562; 30600760); 国家重点基础研究发展计划“973”项目(2004CB518907); 国家高技术研究与发展计划“863”项目(2007AA02Z400)

\*通讯作者 Tel: 010-66931625; E-mail: zhouwx@nic.bmi.ac.cn

早在1991年, Wiczorek等<sup>[1]</sup>于大鼠脑cDNA文库中克隆出RTN1称之为C1-13, 并发现该基因表达具有神经组织特异性; 此后不久, Roebroek等<sup>[2]</sup>采用两种肺癌单抗从小细胞肺癌细胞系(NCI-H82)及神经内分泌细胞中鉴别出RTN1, 并发现RTN1基因特异性表达于神经内分泌细胞, 故将其命名为神经内分泌特异蛋白(neuroendocrine-specific protein, NSP)基因; Velde等<sup>[3]</sup>则进一步采用免疫细胞化学研究发现NSP锚定于内质网膜上, 因而将其重新命名为Reticulons(RTNs)。随后利用基因克隆及检索表达序列标签数据库分析研究, 将一系列蛋白质归类至RTN家族, 并发现RTNs广泛存在于真菌、植物及动物等真核生物, 且主要锚定于内质网。哺乳动物基因组中有RTN1、RTN2、RTN3及RTN4共四类相互独立的基因, 因启动子及选择性剪接方式不同每个基因可产生不同转录本<sup>[4,5]</sup>。尽管RTNs的精确细胞学功能有待确定, 但是已有大量研究结果表明, RTNs具有参与蛋白转运、参与膜结构形态发生或稳定及细胞分裂、构成内质网膜通道或转运体、调节细胞凋亡、调节 $\beta$ 分泌酶( $\beta$ -site APP cleaving enzyme 1, BACE1)活性和神经再生等广泛的生物学功能, 在机体中发挥重要作用。下面就RTNs的结构和生物学功能的研究进展作一综述。

## 1 Reticulon家族基因和蛋白质的特性

### 1.1 Reticulon家族基因和蛋白质基本结构 哺乳动

物RTN基因组结构的共同特征是跨度较长并含有多个大的内含子, 且其第一个大内含子均含有选择性起始位点翻译的启动子, 因而可产生不同的5'端转录本; 此外, 各RTN基因前面几个内含子或外显子中含有多个掩蔽性剪接位点, 这些位点有可能决定了RTN组织或细胞类型特异性剪接变体的产生; 与此相反, 编码C末端内质网蛋白同源结构域(reticulon-homology domain, RHD)的基因构成则较为稳定。因而与此基因特性相应地可产生含趋异的或不同的N末端区和高度保守的C末端区的多种剪接变体。人RTN1、RTN2、RTN3及RTN4基因染色体定位及其蛋白亚型等具体情况见表1。

所有RTNs蛋白羧基端都有由150—200个氨基酸残基组成的RHD。RHD包括两段疏水跨膜区、位于两个跨膜区的由66个氨基酸残基组成的亲水环Nogo-66, 以及一段亲水尾。RHD具有保守性, 它使得RTNs具有共同的功能, 如将RTNs锚定到膜结构、介导蛋白质相互作用等。而RTNs氨基端序列及长度上则高度可变, 从而使得RTNs各个成员以及各个成员的亚型各自呈现出特异性的功能, 尽管如此, RTNs氨基端仍具有一些共同的较为保守的结构特点: 含有大量带负电荷的氨基酸残基、富含脯氨酸和丝氨酸并表现出多个一致的磷酸化位点<sup>[2,6]</sup>; 除固有的结构域特异的生物学作用外, 氨基端这些相对保守的结构特点也可能在诸如亚细胞

表1 人RTNs基因和蛋白的基本信息

类型	染色体定位	亚型	开放阅读框 (bp)	外显子数	氨基酸数 (aa)	相对分子 质量	跨膜区(aa)		
							跨膜区1	翻转结构	跨膜区2
RTN1	14q23.1	A	210-2540	10	776	84 k	618-640	-	707-729
		B	291-1361		356	39 k	-	-	-
		C	297-923		208	24 k	35-57	-	138-172
RTN2	19q13.32	A	229-1866	11	545	59 k	74-396	-	464-486
		B	231-1649		472	51 k	301-323	-	391-413
		C	231-1061		276	30 k	-	-	-
		D	45-662		205	22 k	19-41	-	121-155
RTN3	11q13	A	188-3229	9	1013	111 k	846-868	926-948	953-975
		B	188-955		255	28 k	87-109	-	189-211
		C	188-913		241	27 k	69-91	-	176-198
		D	188-898		236	26 k	69-91	149-171	176-198
RTN4	2p16.3	A	299-3877	14	1192	130 k	1026-1048	-	1126-1148
		B	175-3135		986	109 k	820-842	-	920-942
		C	299-1477		392	42 k	226-248	-	326-348
		D	299-1420		373	40 k	206-228	-	308-330
		E	215-814		199	22 k	32-54	-	134-156

注 资料来源于<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>和<http://www.hprd.org>

定位及蛋白质相互作用中起调节作用<sup>[6, 7]</sup>。人 RTNs 各成员基本结构见图 1。

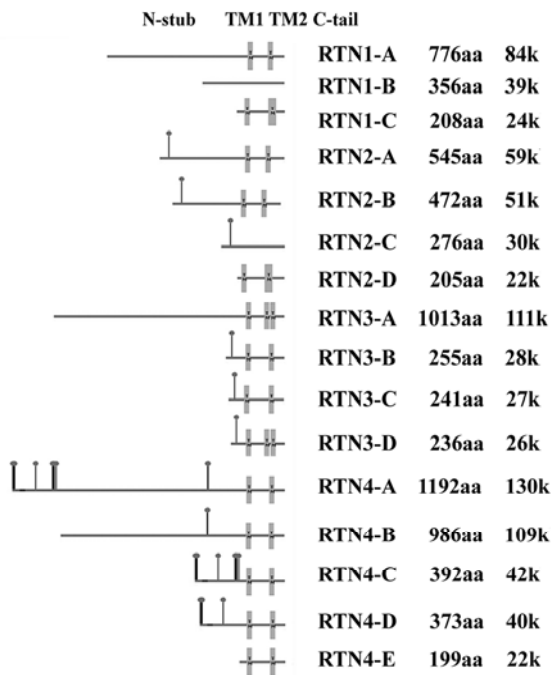


图 1 人 RTN1、RTN2、RTN3 及 RTN4 蛋白质各亚型结构对比

注: 除 RTN1-B 和 RTN2-C 外, 所有成员结构相似, 包括由两段跨膜区、亲水环及 C 末端亲水尾组成的 RHD 和高度变异的 N 末端, 其中 RTN3-A 及 RTN3-D 在环状区存在翻转结构, 由此决定了其具有  $\omega$ -形拓扑结构。方块表示跨膜区及翻转结构; 短棒标记处表示参与蛋白质相互作用的 CC (Coiled Coil, 卷曲螺旋) 模序。资料来源于 <http://www.hprd.org>

1.2 Reticulon 家族蛋白的拓扑结构 哺乳动物 RTNs 的拓扑结构主要由羧基端 RHD 中两个疏水区的跨膜节段数决定。目前已根据疏水区跨膜片段的长度提出了两种羧基端疏水区的拓扑结构, 即马蹄状拓扑结构和  $\omega$ -形拓扑结构; 而其拓扑结构反过来又决定其氨基端面向胞质或内质网腔<sup>[4]</sup>。生物信息学分析表明多数 RTNs 蛋白在膜上采取马蹄状拓扑结构, 但包括 RTN3 在内的几个 RTNs 成员同时也可采取另一种拓扑学模式即  $\omega$ -形拓扑结构, 其亲水环中一小段翻转结构区 (flip-flop region) 折回膜内 (图 2 和图 3)。

RTN3 在膜上可呈  $\omega$ -形拓扑结构 (图 3), 其第一个跨膜结构域 (TM1) 为其膜整合所必需, 破坏该结构域可导致 RTN3 蛋白错误折叠且不能整合到膜上, 而包括整个 TM2 在内的 C 末端区缺失却并不影响 RTN3 整合到膜上。尽管 TM2 对于 RTN3 膜定位并非必需, 但破坏该结构域将影响 RTN3 正确折叠; 而破坏 TM1 和 TM2 则会影响 RTN3 的稳定性及其与 BACE1 相互作用<sup>[8]</sup>。确定 RTN3 的拓扑结构不仅可解释与 BACE1 的相互作用, 也有助于理解阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 患者脑中 RTN3 寡聚物或聚集物在诱发营养不良神经突形成中的具体作用。

有几组研究提示 RTN4 (也称为 Nogo) 可能采取马蹄状拓扑结构 (图 2), 质膜上 RTN4 氨基末端区取向具有双向性, 这表明其跨膜区 (主要是第一跨膜区) 可能以一种灵活的机制贯穿膜双层小叶或自单层小叶中折回, 相应地, 氨基末端或环状区存在于细

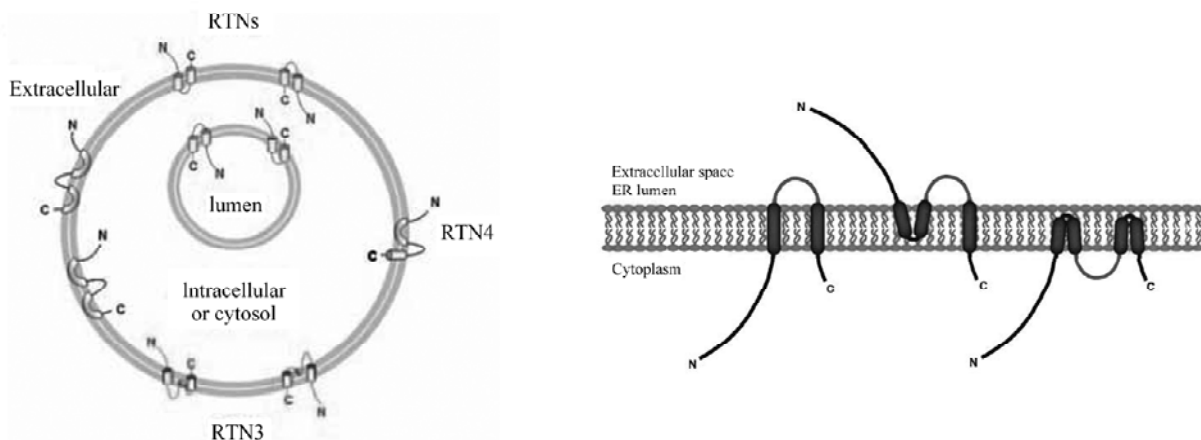


图 2 RTN 蛋白质的拓扑结构

注: RTN 在膜上可能有多种拓扑结构, 但目前的数据多支持其马蹄形和  $\omega$  形拓扑结构。左图示 RTN3、RTN4 及其同系物可能的拓扑学结构<sup>[5]</sup>, 右图示 RTN4 三种拓扑学结构 (摘自: Genome Biol, 2007, 8(12):234)

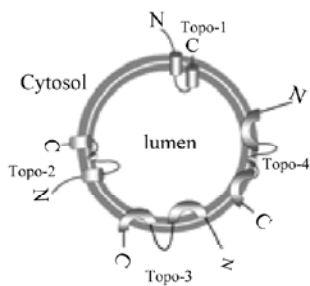


图 3 RTN3在膜上的拓扑学结构<sup>[10]</sup>

胞表面，这与 RTN4 潜在的功能如 RTN4-A 抑制突起延伸相一致。此外，来自过表达 RTN4 的非神经元细胞 COS-7 的研究资料支持第三种拓扑模型(图 2)，即 N 末端和 Nogo-66 均面向胞外<sup>[9]</sup>。事实上 RTN4 中环状结构域即 Nogo-66 介导其与 RTN4 受体(Nogo-66 receptor, NgR)及黏附分子 Caspr 结合。其他 RTNs 环状区受体的鉴定不仅可扩大 RTNs 成员信号通路的范围，更有助于理解 RTN 家族的一般功能。

以上这些结果提示哺乳动物 RTNs 在内质网和质膜上有着不同的拓扑学结构，其构象的多样性可能使 RTNs 在细胞中执行多种功能，也反映出不同类型细胞中 RTNs 功能的多样性。对于 RTNs 结构的研究依然有许多问题需要解决，如 RTN 跨膜区三维结构及 RTNs 采取不同拓扑结构的分子机制或分子伴侣等未知问题。

**1.3 Reticulon家族基因和蛋白表达分布** RTN1的转录本几乎只在神经元和神经内分泌细胞中表达，脑中 RTN1-C 表达于小脑和大脑，而 RTN1-A 则表达于垂体及甲状腺。RTN1 主要定位于内质网。

RTN2 虽然在不同组织中均有一定的表达，但主要表达于骨骼肌，然而在人和小鼠脑区可检测到 RTN2-B，而 RTN2-C 则在骨骼肌中显著高表达。RTN2 除定位于内质网外，在成肌细胞中还与中间纤维结蛋白共定位，而在肌管中则与  $\alpha$  肌动蛋白有关，似乎与肌肉 Z 带有关。

RTN3 的 3 个转录本在很多组织中都有表达。RTN3 在中枢神经系统中高表达，RTN3-B 在脑中表达水平最高，且主要表达于皮层区及小脑神经元<sup>[6]</sup>。RTN3 除定位于内质网膜上外，也存在于高尔基体、轴突、树突和生长锥<sup>[10, 11]</sup>。

RTN4-A 在少突胶质细胞、成人中枢神经系统有髓神经纤维细胞中高表达，在心脏和睾丸中有微

弱表达，在胚胎的肌肉中也有表达；RTN4-B 在中枢和外周神经系统中以及外周组织均有表达；RTN4-C 在骨骼肌中特异性高表达，而在肝脏及肾脏中表达较弱。RTN4-A 除了定位内质网膜上，在少突胶质细胞和成纤维细胞的高尔基体和细胞膜中少量存在；也存在于成人中枢神经系统髓鞘外层环和内层环<sup>[10]</sup>。

RTNs 的组织表达与亚细胞定位与其功能相一致，如内质网中 RTN3 通过其胞质侧亲水性 C 末端与同样锚定于内质网膜的 BACE1 相互作用并抑制其活性，而位于少突胶质细胞表面的 RTN4-A 通过其胞外侧 N 末端及 Nogo-66 与神经元表面受体相互作用抑制突触再生；相反 RTNs 亚细胞定位的改变则与疾病的发生相关，如 AD 中 RTN4-A 及其受体 NgR 定位改变可导致神经突起异常延伸。RTNs 蛋白的亚细胞定位可能与它们的 mRNA 分布有关。

## 2 Reticulon家族蛋白的生物学功能

因 RTNs 结构的多样性决定了 RTNs 具有多样的生物学功能，如抑制 BACE1 活性、抑制神经元再生、调节细胞凋亡等，下面主要将哺乳动物 RTNs 功能的研究进展进行归纳。

**2.1 参与蛋白转运** 研究表明，RTNs 可在内质网至高尔基体、胞内体、突触小泡及质膜的物质转运中发挥作用。RTN1-A 和 RTN1-B 能与网格蛋白相关蛋白(clathrin-associated protein, AP50)结合，AP50 与细胞内吞作用有关，RTN1-A 和 RTN1-B 在氨基端的 168 氨基酸的同源区可能在细胞内吞过程中起作用，RTN1-C 与细胞膜及胞内体中 SNARE 相互作用并调节胞吐作用。Liu 等<sup>[12]</sup>发现 RTN2-B 在 EAAC1 自内质网至细胞表面的转运过程中扮演着正向调节因子的角色。Wakana 等<sup>[11]</sup>发现 RTN3 在早期分泌途径中内质网与高尔基体间跨膜转运中发挥作用，异位表达 RTN3 可阻断介导逆行转运的小管形成；HeLa 细胞过表达 RTN3 可阻断自高尔基复合体至内质网的逆向转运，且 RTN4-A 与 RTN4-B 可与参与胞吞作用的 AP-2 接头蛋白复合体中 AP50 组件相互作用。最近，Xiong 等<sup>[13]</sup>发现，通过 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)下调 RTN4-A 基因表达，可减少 PC12 细胞多巴胺(dopamine, DA)的释放量，而其总量未变。RTNs 表达改变及其对胞内转运可能的影响之间的关系仍在进一步研究中。

**2.2 参与膜结构形态发生或稳定及细胞分裂** RTNs 可能通过蛋白-蛋白相互作用将内质网结合至细胞骨

架上, 从而在稳定内质网网状结构中发挥作用<sup>[4]</sup>, 对此Shnyrova等<sup>[14]</sup>有较详细综述。事实上携带多个SH3结构域结合位点的RTN1、RTN2及RTN3氨基端富含脯氨酸的性质表明, 推测RTNs可与一系列细胞骨架蛋白及信号分子相互作用。RTN4可能在调节内质网形态及功能中发挥作用<sup>[15]</sup>。现已证实RTN4-A与 $\alpha$ -微管蛋白及髓磷脂碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)免疫共沉淀, 进一步研究则表明RTN4-A在核膜形成中发挥作用并为内质网形成所必需<sup>[9, 16]</sup>。另有研究证明, RTN4-A可能在细胞分裂过程中发挥作用。近来Yoko Shibata等<sup>[17]</sup>研究认为, 酵母及哺乳动物细胞中RTN与Dp1/Yop1p形成非移动性寡聚物对于其定位至内质网管状区以及形成内质网小管很重要。Anderson和Hetzer<sup>[18]</sup>研究发现, 过表达内质网小管形成蛋白reticulon 3、reticulon 4及DP1可抑制核膜形成及细胞核伸展, 而其敲除则加速细胞核组装, 这表明内质网成型蛋白(ER-shaping proteins)直接参与细胞核区室重构。

**2.3 构成内质网膜通道或转运体** RTNs成员间可通过RHD间相互作用形成同源或异源聚合物并可能形成孔状结构<sup>[4]</sup>, 如RTN1-A与RTN1-B可在内质网形成相对分子质量约500k的聚合物, 这是由于RTN1-A与RTN1-B氨基端存在168个氨基酸残基的同源区的原因, RTN1-C因缺少这一同源区而不能与RTN1-A聚合。该聚合物被认为以孔状结构发挥作用, 但缺少进一步的证据。RTN4-A/B/C分布于细胞表面并在不同类型细胞中相互作用, 其羧基端两段疏水片段可在内质网膜或细胞表面形成通道或转运体。

**2.4 调节细胞凋亡** 研究表明RTNs可调节细胞凋亡。RTN4-B可与Bcl-XL及Bcl-2相互作用, 阻断其自内质网易位至线粒体而降低其抗凋亡活性。但RTN4-B的促凋亡作用则尚未完全证实, 因为一些研究表明RTN4-B可诱导各种癌细胞系凋亡, 另一些研究则不支持这一结论<sup>[19]</sup>。通过在人胚肾细胞HEK293中过表达RTN4-C的实验研究, 结果表明RTN4-C是通过c-Jun氨基末端激酶/应激活化蛋白激酶(c-JunN-terminal kinase/stress activated protein kinase, JNK/SAPK)-c-Jun通路激活caspase-3及p53, 而不是通过p38诱导了细胞凋亡<sup>[20]</sup>。

另有研究表明, 钾剥夺引发的小脑颗粒神经元细胞死亡可导致RTN3-A1、RTN3-A2、RTN3-A4表达下调<sup>[6]</sup>, 而caspase抑制剂Z-VAD-FMK可逆转

该作用, 表明RTN3-A1、RTN3-A2、RTN3-A4表达下调有赖于细胞凋亡过程<sup>[6]</sup>。此外, RTN3也可通过引发内质网应激而诱导细胞凋亡, 但具体机制不明<sup>[21]</sup>。Zhu等<sup>[22]</sup>则报道RTN3通过结合并介导抗凋亡蛋白Bcl-2向线粒体聚集从而增强其抗凋亡活性。人肾癌细胞株Caki细胞过表达RTN3可通过上调死亡受体5(death receptor 5, DR5)并下调c-FLIP而增强TRAIL介导的凋亡作用。

RTN1-C可与Bcl-XL相互作用并影响其定位从而降低其抗凋亡活性。除此之外, RTN1-C还可与促凋亡酶葡萄糖基神经酰胺合酶(pro-apoptotic enzyme glucosylceramide synthase)相互作用并调节其催化活性, 增强非p53依赖的凋亡通路从而使转染RTN1-C的人神经上皮瘤细胞CHP-100对芬维A胺(Fenretinide)诱导的细胞凋亡更敏感。Melino等<sup>[23]</sup>则发现RTN1-C羧基末端区具有结合核酸并诱导其凝集的能力, 可能与神经元凋亡有关。

**2.5 调节BACE1活性** BACE1在AD发病中发挥重要作用。He等<sup>[24]</sup>采用免疫共沉淀方法研究表明RTN3及RTN4-B可与BACE1相互作用, 其胞内表达水平的变化可显著调节BACE1活性, 其表达水平增加可剂量依赖地降低BACE1活性并显著减少A $\beta$ 产生, 但并不改变A $\beta$ 40/42的比例, 表明RTN3对APP $\gamma$ 位点切割影响极微; 研究提示BACE1与其他RTN成员的相互作用发生在内质网及高尔基体, 进一步研究表明, BACE1的跨膜区而不是氨基端催化区对于这种相互作用是必需的<sup>[19]</sup>, 哺乳动物RTN成员C末端高度保守的QID三联体及BACE1羧基末端区对于RTN与BACE1结合所必需, 尽管RTN3在胞内可形成同源或异源二聚体, 但BACE1主要结合RTN单体, 破坏QID三联体并不影响其二聚化及其亚细胞定位, 但可显著减少与BACE1相互作用<sup>[25]</sup>。此外, Hu等<sup>[10]</sup>发现在AD患者脑中A $\beta$ 沉淀周围, RTN3聚积于一类独特的营养不良突起即RTN3免疫反应性营养不良突起(RTN3 immunoreactive dystrophic neurites, RIDNs)中, 这种营养不良突起可损伤海马功能, 如引起空间学习和记忆以及突触可塑性损伤。进一步研究表明, 高相对分子质量RTN3聚集物可诱发RIDNs形成。检测表达瑞典型突变APP的小鼠模型中环绕淀粉样蛋白斑的营养不良突起表明其形成是继发于A $\beta$ 沉淀的事件, 但A $\beta$ 沉淀不太可能是引发AD中营养不良突起形成的惟一因素, 除这类独特的营养不良突起RIDNs外,

A $\beta$ 沉淀周围还聚集着含APP、eA $\beta$ LP-2 (amyloid precursor protein-like protein-2)、泛素、GAP-43 (growth-associated protein 43) 及 SNAP-25 (synaptosomal-associated protein of 25 kD) 的营养不良突起。

在体研究发现 NgR 可与 APP 外功能区氨基端和羧基端及 A $\beta$  直接相互作用并限制 A $\beta$  蓄积、阻断 A $\beta$  斑块沉淀, 且培养成神经细胞瘤过表达 NgR 可减少 A $\beta$  产生; 靶向破坏 NgR 表达可增加转基因小鼠脑内 A $\beta$  水平并导致 A $\beta$  斑块沉淀及营养不良突起增加。进一步证实 NgR 通过阻断  $\alpha$  或  $\beta$  分泌酶接近底物 APP 而降低 A $\beta$  水平<sup>[26]</sup>。因此, 生理条件下神经元胞体上 NgR 一方面可与少突胶质细胞髓鞘上 RTN4-A 相互作用抑制中枢神经系统突触再生, 另一方面与神经元胞膜上 APP 外功能区相互作用抑制 A $\beta$  生成, 进而减少 A $\beta$  斑块沉淀; 两者均可抑制神经元突触异常延伸, 故 NgR 提供了干预 AD 过程的又一新位点。但尚未观察到 A $\beta$  与 Nogo-66、髓磷脂相关糖蛋白 (myelin-associated glycoprotein, MAG) 及少突胶质细胞髓磷脂糖蛋白 (oligodendrocyte myelin glycoprotein, OMgp) 直接竞争结合 NgR。

**2.6 抑制神经再生** RTN4 存在于成人神经系统, 但在发育过程中及损伤后也有表达。RTN4-A 通过其受体 NgR 复合物参与中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 轴突生长及再生抑制并限制 CNS 的可塑性<sup>[4]</sup>, RTN4-A 通过 Nogo-66 环与由糖基磷脂酰肌醇锚定 (glycosylphosphatidylinositol-anchored, GPI-anchored) 的膜受体 NgR、低亲和力神经生长因子受体 p75<sup>NTR</sup> 以及神经系统特异性跨膜蛋白 LINGO-1 组成的复合物相互作用导致生长锥崩塌; 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumour necrosis factor  $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) 孤儿受体家族成员 TROY 在神经系统广泛表达, 它可通过与 NgR 和 LINGO-1 相互作用从而介导 RTN4-A 的抑制作用<sup>[27, 28]</sup>。RTN4-A 氨基末端区 (amino-nogo) 存在另外两个 RTN4-A 特异的活性片段: NiR-N2 和 NiG-220, 可抑制神经突生长及成纤维细胞迁移<sup>[29]</sup>。尽管通过不同的神经元结合位点发挥作用, 但 Nogo-66 及 NiG-N20 最后汇合于 Rho 及 Rac1 而抑制神经突延伸。研究发现 NgR 也可与 MAG 和 OMgp 结合并介导其抑制作用<sup>[4]</sup>。RTN4-A 也在发育期间调节突触寻路 (path finding) 和成人 CNS 适应性应答轴突损伤中发挥作用。另有研究表明 RTN4-B 可抑制轴突生长, 而仅 Kim 等<sup>[30]</sup>发现 Nogo-C 足以延缓

神经退变。

**2.7 其他** 研究表明 RTN4-B 在血管壁内皮细胞及平滑肌细胞中高水平表达, 可通过氨基端促进内皮细胞迁移并抑制血管平滑肌细胞迁移而调节血管重构。在 RTN4-A 和 RTN4-B 基因剔除小鼠中转染 RTN4-B 可援救异常的血管扩张, 且 RTN4-B 以一种未知机制在应答静压 (hydrostatic pressure) 的软骨细胞中表达上调。Zhou 等<sup>[31]</sup>发现, *RTN4* 3' 非翻译区 (*RTN4* 3' UTR) 插入 / 缺失多态性与扩张型心肌病 (dilated cardiomyopathy, DCM) 间存在相关性。

### 3 小结

综上所述, RTNs 与其他蛋白分子间的相互作用有赖于其拓扑结构及其取向, 因而有必要进一步研究其拓扑学结构及其分子构象。大量研究表明, RTN3 及 RTN4-B/C 可通过羧基端高度保守的氨基酸残基与 BACE1 相互作用而阻断 BACE1 接近其底物 APP, 从而减少 A $\beta$ 40 及 A $\beta$ 42 的产生, 但 BACE1 是否直接结合 RTNs 尚不清楚, RTN3 与 BACE1 相互作用的分子机制及其生理学作用也有待阐明; 除 RTN4-A 抑制中枢神经系统突触再生研究得较多外, 虽然发现其他 RTNs 成员可能发挥各种细胞功能, 如调节细胞凋亡、参与蛋白转运、参与膜结构形态发生或稳定及细胞分裂、构成内质网膜通道或转运体等, 但这些功能还有待进一步深入研究。尤其是 RTNs 在神经退行性疾病, 如 AD 中的作用有待进一步研究。有待进一步解决的问题还包括 RTNs 神经元 / 非神经元受体及胞内相互作用分子。RTNs 拓扑结构和功能的深入研究, 一方面对 RTNs 作为癌症和神经退行性疾病如 AD、肌萎缩性侧索硬化 (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、多发性硬化 (multiple sclerosis, MS)、唐氏综合征 (Down syndrome) 等的标志物的确证具有重要意义, 另一方面研发 RTN 类似物, 对防治这类疾病具有重要意义。

### [参考文献]

- [1] Wieczorek DF, Hughes SR. Developmentally regulated cDNA expressed exclusively in neural tissue. *Brain Res Mol Brain Res*, 1991, 10 (1): 33-41
- [2] Roebroek AJ, van de Velde HJ, Van Bokhoven A, et al. Cloning and expression of alternative transcripts of a novel neuroendocrine-specific gene and identification of its 135-kDa translational product. *J Biol Chem*, 1993, 268 (18): 13439-47
- [3] van de Velde HJ, Roebroek AJ, Senden NH, et al. NSP-encoded reticulons, neuroendocrine proteins of a novel gene

- family associated with membranes of the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci*, 1994, 107 (9): 2403-16
- [4] Oertle T, Schwab ME. Nogo and its paRTNers. *Trends Cell Biol*, 2003, 13 (4): 187-94
- [5] Yan R, Shi Q, Hu X, et al. Reticulon proteins: emerging players in neurodegenerative diseases. *Cell Mol Life Sci*, 2006, 63 (7-8): 877-89
- [6] Di Scala F, Dupuis L, Gaiddon C, et al. Tissue specificity and regulation of the N-terminal diversity of reticulon 3. *Biochem J*, 2005, 385 (Pt 1): 125-34
- [7] Fergani A, Dupuis L, Jokic N, et al. Reticulons as markers of neurological diseases: focus on amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegener Dis*, 2005, 2 (3-4): 185-94
- [8] He W, Shi Q, Hu X, et al. The membrane topology of RTN3 and its effect on binding of RTN3 to BACE1. *J Biol Chem*, 2007, 282 (40): 29144-51
- [9] Voeltz GK, Prinz WA, Shibata Y, et al. A class of membrane proteins shaping the tubular endoplasmic reticulum. *Cell*, 2006, 124 (3): 573-86
- [10] Hu XY, Shi Q, Zhou XD, et al. Transgenic mice overexpressing reticulon 3 develop neuritic abnormalities. *EMBO J*, 2007, 26 (11): 2755-67
- [11] Wakana Y, Koyama S, Nakajima K, et al. Reticulon 3 is involved in membrane trafficking between the endoplasmic reticulum and Golgi. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334 (4): 1198-205
- [12] Liu YT, Vidensky S, Ruggiero AM, et al. Reticulon RTN2B regulates trafficking and function of neuronal glutamate transporter EAAC1. *J Biol Chem*, 2008, 283 (10): 6561-71
- [13] Xiong NX, Pu JZ, Zhao HY, et al. Effect of Nogo-A gene inhibition on dopamine release in PC12 cells. *Neuro Endocrinol Lett*, 2008, 29 (6): 884-8
- [14] Shnyrova A, Frolov VA, Zimmerberg J. ER biogenesis: self-assembly of tubular topology by protein hairpins. *Curr Biol*, 2008, 18 (11): R474-6
- [15] Teng FY, Tang BL. Cell autonomous function of Nogo and reticulons: the emerging story at the endoplasmic reticulum. *J Cell Physiol*, 2008, 216 (2): 303-8
- [16] Kiseleva E, Morozova KN, Voeltz GK, et al. Reticulon 4a/NogoA locates to regions of high membrane curvature and may have a role in nuclear envelope growth. *J Struct Biol*, 2007, 160 (2): 224-35
- [17] Shibata Y, Voss C, Rist JM, et al. The reticulon and Dp1/Yop1p proteins form immobile oligomers in the tubular endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*, 2008, 283 (27): 18892-904
- [18] Anderson DJ, Hetzer MW. Reshaping of the endoplasmic reticulum limits the rate for nuclear envelope formation. *J Cell Biol*, 2008, 182 (5): 911-24
- [19] Murayama KS, Kametani F, Saito S, et al. Reticulons RTN3 and RTN4-B/C interact with BACE1 and inhibit its ability to produce amyloid  $\beta$ -protein. *Eur J Neurosci*, 2006, 24 (5): 1237-44
- [20] Chen YC, Tang XJ, Cao XR, et al. Human Nogo-C overexpression induces HEK293 cell apoptosis via a mechanism that involves JNK-c-Jun pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 348 (3): 923-8
- [21] Kuang E, Wan Q, Li X, et al. ER Ca<sup>2+</sup> depletion triggers apoptotic signals for endoplasmic reticulum (ER) overload response induced by overexpressed reticulon 3 (RTN3/HAP). *J Cell Physiol*, 2005, 204 (2): 549-59
- [22] Zhu L, Xiang R, Dong W, et al. Anti-apoptotic activity of Bcl-2 is enhanced by its interaction with RTN3. *Cell Biol Int*, 2007, 31 (8): 825-30
- [23] Melino S, Nepravishta R, Bellomaria A, et al. Nucleic acid binding of the RTN1-C-C-terminal region: toward the functional role of a reticulon protein. *Biochemistry*, 2009, 48 (2): 242-53
- [24] He WX, Lu YF, Qahwash I, et al. Reticulon family members modulate BACE1 activity and amyloid- $\beta$  peptide generation. *Nat Med*, 2004, 10 (9): 959-65
- [25] He WX, Hu XY, Shi Q, et al. Mapping of interaction domains mediating binding between BACE1 and RTN/Nogo proteins. *J Mol Biol*, 2006, 363 (3): 625-34
- [26] Park JH, Gimbel DA, GrandPre T, et al. Alzheimer precursor protein interaction with the Nogo-66 receptor reduces amyloid- $\beta$  plaque deposition. *J Neurosci*, 2006, 26 (5): 1386-95
- [27] Park JB, Yiu G, Kaneko S, et al. A TNF receptor family member, TROY, is a coreceptor with Nogo receptor in mediating the inhibitory activity of myelin inhibitors. *Neuron*, 2005, 45 (3): 345-51
- [28] Shao Z, Browning JL, Lee X, et al. TAJ/TROY, an orphan TNF receptor family member, binds Nogo-66 receptor-1 and regulates axonal regeneration. *Neuron*, 2005, 45 (3): 353-9
- [29] Dodd DA, Niederoest B, Bloechlinger S, et al. Nogo-A, -B, and -C are found on the cell surface and interact together in many different cell types. *J Biol Chem*, 2005, 280 (13): 12494-502
- [30] Kim JE, Bonilla IE, Qiu D, et al. Nogo-C is sufficient to delay nerve regeneration. *Mol Cell Neurosci*, 2003, 23 (3): 451-9
- [31] Zhou B, Rao L, Li Y, et al. The association between dilated cardiomyopathy and RTN4 3' UTR insertion/deletion polymorphisms. *Clin Chim Acta*, 2009, 400 (1-2): 21-4