

# Wszystko na swoim miejscu – rola receptorów VPS10P w komórkowej segregacji białek

mgr Paulina Kamińska<sup>1,2</sup>✉,

lic. Sylwia Piątek<sup>1</sup>,

mgr Magdalena Bieniek<sup>2</sup>,

dr Anna R. Malik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupa Badawcza Neurobiologii Komórkowej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski  
<sup>2</sup>Laboratorium Neurobiologii Molekularnej, Instytut Biologii Doświadczalnej PAN, Warszawa

[https://doi.org/10.18388/pb.2021\\_473](https://doi.org/10.18388/pb.2021_473)

✉autor korespondujący: p.kaminska@nencki.edu.pl

**Słowa kluczowe:** transport komórkowy, receptory VPS10P, neurodegeneracja, choroby metaboliczne, neurotrofiny

**Wykaz stosowanych skrótów:** AD (ang. *Alzheimer's disease*) – choroba Alzheimera; BDNF (ang. *brain derived neurotrophic factor*) – czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego; FTLD (ang. *frontotemporal lobar degeneration*) – degeneracja czołowo-skroniowa; LDL-C (ang. *low density lipoprotein cholesterol*) – cholesterol związany z lipoproteinami o niskiej gęstości; NGF (ang. *nerve growth factor*) – czynnik wzrostu nerwów; OUN – ośrodkowy układ nerwowy; TGN (ang. *trans-Golgi Network*) – sieć trans aparatu Golgiego; VPS10P (ang. *vacuolar protein sorting 10 protein*) – białko VPS10

**Podziękowania:** Badania prowadzone przez autorów niniejszej pracy przeglądowej są finansowane ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki (Opus nr 2020/37/B/NZ3/00761) oraz w ramach Działania I.3.4. Programu IDUB. Streszczenie graficzne zostało wykonane z wykorzystaniem programu BioRender.

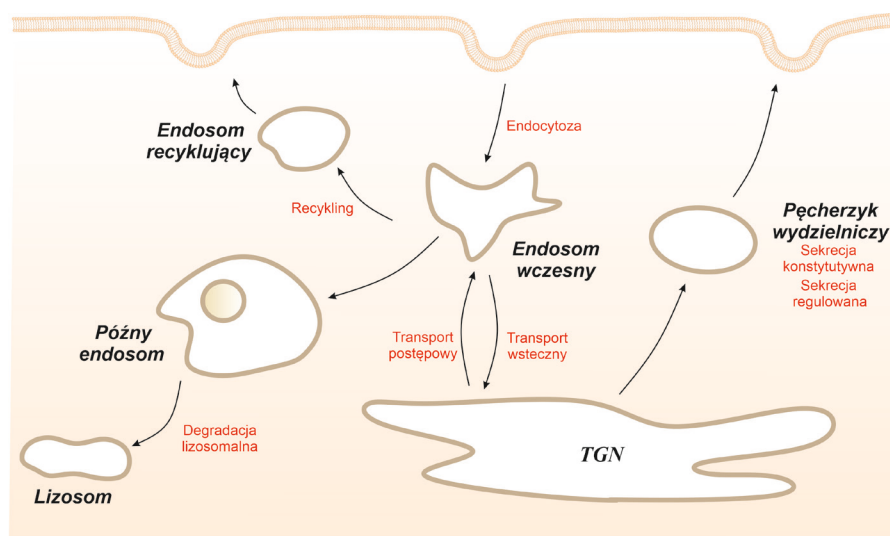
## STRESZCZENIE

Receptory z domeną VPS10P (ang. *vacuolar protein sorting 10 protein*) stanowią rodzinę białek sortujących, które kierują wewnątrzkomórkowym transportem swoich białkowych ligandów, odpowiadając tym samym za ich prawidłowe lokalizowanie w obrębie organelli komórkowych. Rola receptorów została scharakteryzowana głównie w neuronach, gdzie efektywny system sortowania białek stanowi kluczowy element ich prawidłowego działania, a jego dysfunkcje mogą prowadzić do upośledzenia procesów związanych z plastycznością synaptyczną i do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych. Receptory z domeną VPS10P pełnią także ważną rolę w regulacji procesów związanych z metabolizmem tłuszczów, transportując enzymy biorące udział w ich biochemicznych przemianach oraz uczestnicząc w pobieraniu przez komórki lipoprotein. Ostatnie doniesienia wskazują, że receptory z domeną VPS10P stanowią również istotny element związany z odpowiedzią immunologiczną, w którą zaangażowane są zarówno komórki układu odpornościowego, jak i glejowe. Nie bez znaczenia pozostaje także ich rola w patogenezie chorób nowotworowych.

## WPROWADZENIE

Przestrzenna oraz czasowa regulacja procesów biologicznych zachodzących w komórkach eukariotycznych możliwa jest dzięki obecności wyspecjalizowanych organelli komórkowych, spełniających konkretne funkcje. Każda z nich zawiera unikalny dla siebie zestaw białek niezbędnych do przebiegu zachodzących w nich procesów. W związku z tym konieczny jest regulowany i efektywny system transportowania białek w obręb docelowej organelli, określane mianem sortowania białek. Proces ten odbywa się w głównej mierze za pośrednictwem transportu pęcherzykowego, którego ogólna zasada opiera się na fuzji błony pęcherzyka transportowego zawierającego konkretne białko z błoną docelowej struktury komórkowej. Powstałe połączenie pomiędzy błonami dwóch struktur umożliwia skierowanie transportowanego białka do miejsca przeznaczenia [1–3].

Procesy związane z pęcherzykowym transportem białek można podzielić na te związane z egzo- oraz endocytozą (Ryc. 1). Egocytoza umożliwia wydzielanie poza komórkę m. in. cytokin, hormonów i neuroprzekaźników oraz dostarczenie do powierzchni komórki receptorów zakotwiczonych w jej błonie [4]. Proces ten rozpoczyna się od transportu nowo zsyntetyzowanych białek z miejsca ich syntezy – szorstkiej siateczki śródplazmatycznej do aparatu Golgiego [5]. Po procesach modyfikacji potranslacyjnych, którym białko ulega w najbardziej



Rycina 1. Schemat transportu pęcherzykowego wewnątrz komórki eukariotycznej.

zewnątrznej części organelli – sieci *trans* Golgiego (ang. *trans-Golgi network*, TGN) jest ono ponownie zamykane w pęcherzyku transportowym [3]. Z TGN białka mogą trafiać do struktur docelowych na drodze sekrecji konstytutywnej, zachodzącej bezpośrednio po procesie syntezy, lub w sposób regulowany, pod wpływem bodźca [6]. Kierowanie białek szlakami wydzielniczymi z TGN do miejsc ich przeznaczenia, w tym do błony komórkowej, endosomów oraz lizosomów nosi nazwę transportu postępowego (ang. *antegrade transport*) [7].

Proces przeciwny do egzocytozy – endocytoza, jest kluczowy w kontekście degradacji składników błony komórkowej, poborze składników odżywczych, odpowiedzi immunologicznej, jak również w przekazywaniu sygnałów pochodzących od aktywowanych receptorów [8]. W procesie endocytozy białka zamykane są w świetle pęcherzyków powstających na skutek wpuklenia błony komórkowej [9]. Pierwszym etapem endocytozy jest więc utworzenie pęcherzyka endosomalnego, tzw. wczesnego endosomu (ang. *early endosome*). Z jego światła białka mogą ponownie trafić do błony komórkowej poprzez endosom recyklujący (ang. *recycling endosome*), bądź też mogą zostać skierowane do degradacji. W tym wypadku wczesny endosom dojrzewa do stadium endosomu późnego (ang. *late endosome*), a następnie lizosomu [10,11]. Kolejnym możliwym scenariuszem w przypadku białek pobranych przez komórkę na drodze endocytozy jest ich tzw. transport wsteczny (ang. *retrograde transport*). Jego zasada opiera się na kierowaniu białek z endosomów (wczesnych, późnych lub recyklujących) do TGN, aparatu Golgiego bądź w niektórych przypadkach do retikulum endoplazmatycznego. Ten typ transportu umożliwia m. in. przebieg procesów związanych z sygnalizacją komórkową oraz kontrolę aktywności transporterów [9].

Efektywnie działający system sortowania białek jest szczególnie ważny w komórkach o budowie spolaryzowanej, takich jak neurony. Od ciała komórki nerwowej odchodzą długie wypustki – aksony i dendryty, zaangażowane w przewodzenie sygnałów nerwowych. W procesy te zaangażowane są różnorodne białka, które wymagają efektywnego i szybkiego transportu do miejsca gdzie pełnią swoje funkcje. W związku z tym prawidłowe sortowanie białek bez wątplenia wpływa na sprawną komunikację międzykomórkową oraz procesy związane z plastycznością synaptyczną, będące podstawą procesów uczenia się [12].

Sortowanie białek w neuronach w dużym stopniu zależy od aktywności receptorów z domeną VPS10P (ang. *vacuolar protein sorting 10 protein*), które dla uproszczenia będą w tej pracy określane mianem receptorów VPS10P. Ich funkcje w komórkach neuronalnych zostały opisane przede wszystkim w kontekście regulacji transportu receptorów dla neuroprzekazników [13,14] oraz czynników troficznych i ich receptorów, niezbędnych w procesach związanych z plastycznością synaptyczną [15]. Receptory VPS10P okazały się także pełnić istotne role poza układem nerwowym, w szczególności w kontekście rozwoju zaburzeń metabolicznych. W niniejszej pracy skupimy się głównie na przedstawieniu ich roli w komórkach neuronalnych oraz konsekwencji ich zaburzonego funkcjonowania. Ponadto, podsumujemy kluczowe informacje dotyczące funkcji receptorów VPS10P

poza ośrodkowym układem nerwowym (OUN) istotnych z punktu widzenia patogenezy chorób metabolicznych. Przedstawimy także nowe kierunki badań nad receptorami VPS10P.

## RECEPTORY VPS10P

### STRUKTURA I BIOSYNTENZA RECEPTORÓW VPS10P

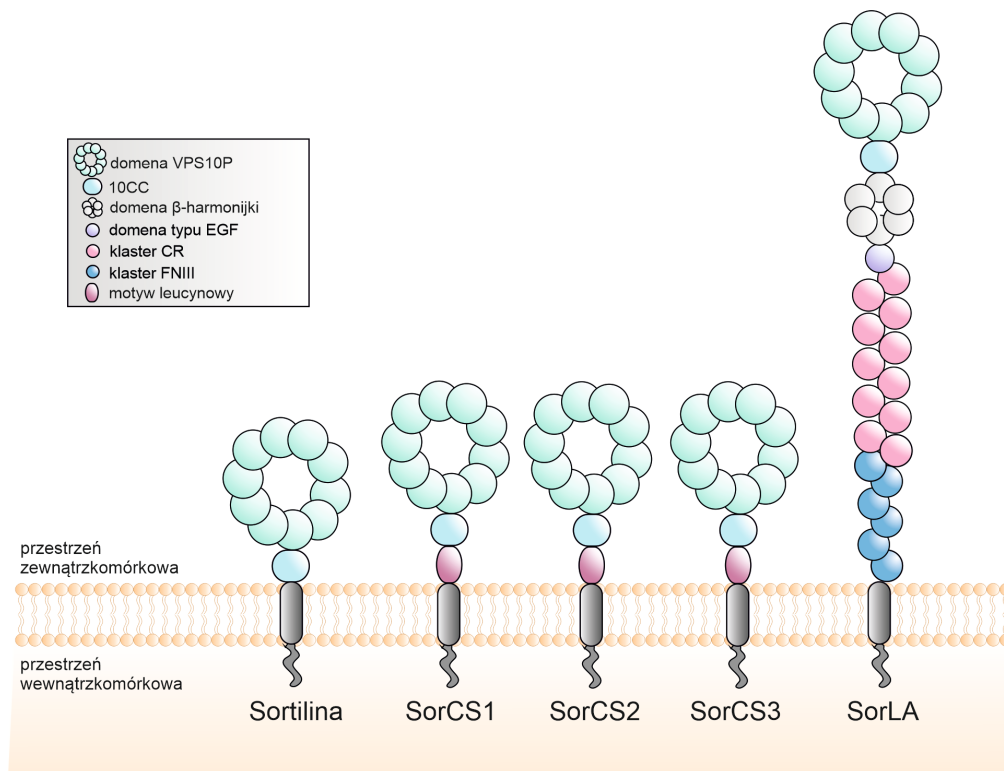
Receptory VPS10P stanowią rodzinę białek transbłonowych, które zostały zakwalifikowane do jednej grupy ze względu na ich strukturalne podobieństwo do białka Vps10p, po raz pierwszy opisanego u *Saccharomyces cerevisiae*. Badania nad drożdżowym białkiem Vps10p wykazały, że jest ono odpowiedzialne za regulację wewnątrzkomórkowego transportu karboksypeptydazy Y. Dowodzi tego fakt, że delecja genu kodującego Vps10p skutkuje zwiększonym o ponad 90% wydzielaniem prekursorowej formy karboksypeptydazy [16].

W skład rodziny ssaczych receptorów VPS10P wchodzi pięć białek: sortilina, SorCS1, SorCS2, SorCS3 oraz SorLA [17], których struktura jest dość zróżnicowana (Ryc. 2). Wszystkie z nich posiadają domenę VPS10P, odpowiadającą za wiązanie białkowych ligandów, fragment transbłonowy oraz krótki, cytoplazmatyczny fragment (10-78 aminokwasów), którego funkcją jest oddziaływanie z białkami adaptorowymi, umożliwiającymi transport receptorów oraz ich ligandów do odpowiednich miejsc docelowych w obrębie komórki [15].

Część zewnątrzkomórkowa sortiliny, która wykazuje najmniej złożoną budowę spośród receptorów, składa się w całości z domeny VPS10P połączonej z bogatą w cysteiny domeną 10CC. W budowie SorCS1, SorCS2 i SorCS3 pomiędzy domeną cytoplazmatyczną a domeną 10CC można dodatkowo wyróżnić motyw aminokwasowy bogaty w leucynę, który bierze udział w interakcjach białko-białko [15,17,18]. Budowę białka SorLA wyróżnia największa złożoność – w części zewnątrzkomórkowej oprócz domeny VPS10P oraz domeny 10CC występują [19]:

- domena  $\beta$ -harmonijki (ang.  *$\beta$ -propeller*);
- domena typu epidermalnego czynnika wzrostu (ang. *epidermal growth factor*, EGF);
- klaster CR, który składa się z powtarzalnych, 40-to aminokwasowych sekwencji bogatych w cysteinę, wiążących jony wapniowe (ang. *complement-type repeats*) [20];
- klaster FNIII, składający się z 90-aminokwasowych powtórzeń, pierwotnie opisanych w strukturze białka fibronektyny III (ang. *fibronectin III*) [21].

Klaster CR oraz domena VPS10P biorą udział w wiązaniu ligandów, podczas gdy domena  $\beta$ -harmonijki uczestniczy w zmianach konformacyjnych SorLA. Umożliwia to uwalnianie pod wpływem niskiego pH (<5,5) wiązanych przez receptor ligandów w świetle endosomów [22–24].



Rycina 2. Schemat budowy pięciu receptorów VPS10P (na podstawie [15]).

Receptory VPS10P syntetyzowane są w formie białek prekursorowych zawierających na swoim N-końcu propeptyd o długości od 44 do 100 aminokwasów, który uniemożliwia im przedwczesne wiązanie ligandów [25,26]. W świetle TGN następuje odcięcie propeptydu, co aktywuje domenę VPS10P i umożliwia interakcje receptora z białkowym ligandem [15,25]. Receptory VPS10P mogą występować w przeważającej formie w postaci monomerów (sortilina i SorLA) bądź homodimerów (SorCS1-3) [15,17]. Należy wspomnieć, że dimeryzacja sortiliny zachodząca pod wpływem kwaśnego pH panującego w świetle endosomów stanowi mechanizm odpowiedzialny za uwalnianie związanych przez receptor ligandów [27]. Najnowsze doniesienia wskazują, że także SorLA może tworzyć dimery [28].

#### REGULACJA EKSPRESJI RECEPTORÓW VPS10P

Receptory VPS10P różnią się poziomem ekspresji pomiędzy różnymi strukturami OUN, choć w przypadku większości części mózgowia, swoje funkcje pełni w nich więcej niż jeden receptor [25]. W dorosłym ludzkim mózgu, SorLA i sortilina ulegają ekspresji w neuronach kory, hipokampa i mózdzku [29]. Również w przypadku SorCS1, -2 i -3 widoczna jest ich neuronalna ekspresja, chociaż jest ona ograniczona do określonych populacji komórek. Co ciekawe, w tym wypadku wzory ekspresji receptorów nie pokrywają się. W hipokampie, SorCS1 i SorCS3 ulegają ekspresji w regionie CA1, podczas gdy SorCS2 widoczny jest przede wszystkim w regionie CA2 i zakręcie zębatym [30]. Warto podkreślić, że poziom receptorów VPS10P może zmieniać się podczas rozwoju osobniczego. Analiza poziomu SorCS2 w różnych strukturach mózgu myszy wykazała bowiem, że ilość biał-

ka w korze i mózdzku wzrasta wraz z wiekiem zwierzęcia. We wzgórzu natomiast zaobserwowano sytuację odwrotną: poziom SorCS2 malał w miarę upływu czasu od narodzin myszy [31].

Mimo, że w zdrowym mózgu receptory VPS10P występują przede wszystkim w neuronach, sytuacja ta może ulec zmianie podczas chorób lub uszkodzeń mózgu. Przykładowo, w warunkach fizjologicznych SorCS2 występuje w neuronach, jednak w badaniach z wykorzystaniem modelu udaru niedokrwiennego (ang. *middle cerebral artery occlusion*, MCAO) oraz u pacjentów po przebytych udarze odnotowana została obecność tego receptora w astrocytach [32]. Otwarte pozostaje pytanie, czy podobna indukcja ekspresji receptorów VPS10P towarzysząca stanom chorobowym występuje w przypadku innych białek z tej grupy, a jeśli tak, to w jakich komórkach i w przebiegu jakich schorzeń można ją zaobserwować.

Ekspresja receptorów VPS10P może być regulowana również w odpowiedzi na docierające do komórek bodźce. Neurony stymulowane czynnikiem neurotroficznym pochodzenia mózgowego (ang. *brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) lub kwasem dokozaheksaenowym wykazują aktywację transkrypcji genu *Sorl1*, czego następstwem jest powstanie funkcjonalnej formy białka SorLA [33,34]. W zależności od aktywności synaptycznej, poziom ekspresji SorCS1 oraz SorCS3 również może ulegać dynamicznym zmianom w hipokampalnych komórkach nerwowych [30]. W przypadku SorCS2 zaobserwowano natomiast wzrost ilości białka po traktowaniu neuronów nadtleniem wodoru ( $H_2O_2$ ), co może świadczyć o neuroprotektoryjnej funkcji tego receptora w odpowiedzi na stres oksydacyjny [35]. Poziom



ekspresji receptorów VPS10P może być także regulowany w komórkach glejowych, co udowodniono z wykorzystaniem modeli *in vitro*. Badania z użyciem mysich glejowych hodowli pierwotnych wykazały, że cytokina TGF- $\beta$  indukuje ekspresję SorCS2 w astrocytach [32], z kolei mikroglej pochodzenia ludzkiego poddany działaniu neurotensyny wykazuje wzmoczoną ekspresję genu kodującego sortilinę [36].

#### KRAŻENIE RECEPTORÓW VPS10P W KOMÓRCIE

Podstawę transportu z udziałem receptorów VPS10P stanowią nie tylko domeny zewnątrzkomórkowe wiążące białkowe ligandy, ale także oddziaływania z białkami adaptorowymi, zachodzące za pośrednictwem cytoplazmatycznych części receptorów. Adaptory biorące udział w wewnątrzkomórkowym transporcie pęcherzykowym wiążą zarówno białka znajdujące się w obrębie błony (na przykład receptory VPS10P), jak i te niezbędne do formowania i transportu pęcherzyków [37,38]. Istotą tych interakcji jest umożliwienie receptorom VPS10P przemieszczania się wraz z pęcherzykami transportowymi pomiędzy odpowiednimi przedziałami komórkowymi, dzięki czemu mogą uwalniać do ich światła związany ligand [15,25]. Receptory VPS10P różnią się między sobą specyficznością wiązania poszczególnych białek adaptorowych (Tabela 1), przez co uczestniczą w różnych ścieżkach transportu komórkowego [15]. Przykładowo, SorCS2 wydaje się pełnić istotne role przede wszystkim w recyklingu swoich ligandów do błony komórkowej, podczas gdy aktywność SorLA w dużej mierze wiąże się z sortowaniem białek docelowych pomiędzy TGN i endosomami.

Spośród receptorów VPS10P, to właśnie SorLA wydaje się być najlepiej poznana pod względem oddziaływań z białkami adaptorowymi, które stanowią podstawę protekcyjnych funkcji receptora w kontekście choroby Alzheimera (dokładny opis tego zjawiska został przedstawiony w dalszej części tekstu). Wiadomo, że część cytoplazmatyczna SorLA wiąże szereg adaptorów istotnych dla transportu pomiędzy endosomami i TGN, takich jak PACS1 (ang. *phosphofurin acidic cluster sorting protein 1*) [42], kompleks AP-1 (ang. *adaptor protein complex-1*) [43], białka z rodziny GGA (ang. *Golgi-localizing,  $\gamma$ -adaptin ear homology domain*) oraz kompleks retromeru. Zarówno PACS1, jak i AP-1 biorą udział w transporcie postępowym, tj. ze światła TGN do endosomów [25], z kolei kompleks retromeru odpowiada za transport w kierunku odwrotnym. Dzięki oddziaływaniom z białkami z rodziny GGA, SorLA oraz sortilina uczestniczą

w transporcie swoich białkowych ligandów między TGN, endosomami, a lizosomami [46,47]. Istotny jest także udział sortiliny w transporcie pomiędzy TGN a endosomami, na co wskazują udowodnione interakcje receptora z AP-1 i kompleksem retromeru [44]. Innym znanym oddziaływaniem pomiędzy receptorami VPS10P a białkami adaptorowymi jest wiązanie kompleksu adaptorowego AP-2 kluczowego dla inicjacji endocytozy zależnej od klatryny przez SorLA i SorCS1 [43,45].

Białka błonowe, a więc również te z rodziny VPS10P, mogą podlegać zjawisku cięcia proteolitycznego. Zachodzi ono w rejonie przybłonowym po zewnętrznej stronie błony komórkowej, na skutek czego dochodzi do uwolnienia tzw. ektodomeny (ang. *shedding*) [48,49]. Receptory VPS10P ulegają cięciu przez metaloproteinazę ADAM17, przy czym częstotliwość ich cięcia proteolitycznego różni się pomiędzy poszczególnymi białkami. Eksperymenty na linii komórkowej CHO-K1 wykazały, że podczas gdy sortilina i SorCS1 w bardzo małym stopniu podlegają zjawisku jakim jest „shedding”, SorCS2, -3 oraz SorLA charakteryzują się wysokim stopniem uwalniania ektodomeny [49]. Funkcje uwalnianych do środowiska zewnątrzkomórkowego ektodomen, jak i mechanizmy leżące u podstaw tego zjawiska nie są jeszcze w pełni poznane. W przypadku SorLA wykazano, że jej ektodomena wpływa na rozwój i regenerację neuronów poprzez aktywację receptora epidermalnego czynnika wzrostu (ang. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) [50]. Z kolei „shedding” sortiliny indukowany jest poprzez depolaryzację neuronów [49]. Co ciekawe, zjawisko proteolitycznego cięcia receptorów VPS10P może być wykorzystane w diagnostyce klinicznej, gdzie uwolnione ektodomeny mogą stanowić markery stanów chorobowych. W przebiegu choroby Alzheimera oraz otyłości, stwierdza się podwyższony poziom ektodomeny SorLA – odpowiednio – w płynie mózgowo-rdzeniowym i we krwi [51,52]. Spekuluje się także, że uwolniona ektodomena sortiliny może stanowić marker w zaburzeniach sercowo-naczyniowych oraz zaburzeniach ze spektrum autyzmu [36,53].

#### ZNANE NEURONALNE FUNKCJE RECEPTORÓW

Funkcje receptorów z domeną VPS10P zostały dotychczas najlepiej poznane w komórkach nerwowych, gdzie uczestniczą one w kluczowych procesach takich jak regulacja transportu receptorów dla neuroprzebieżników, białek sygnałowych i białek formujących synapsy. Ich istotnej roli dowodzi fakt, że zaburzenia w neuronalnym działaniu

**Tabela 1.** Białka adaptorowe, dla których wykazano interakcje z receptorami VPS10P.

Adaptor	Funkcja	Receptor	Referencje
kompleks retromeru	transport wsteczny	SorLA sortilina	[39,40]
PACS1	transport wsteczny, transport postępowy	SorLA	[41,42]
AP-1	transport wsteczny, transport postępowy	SorLA sortilina	[43,44]
AP-2	endocytoza zależna od klatryny	SorLA SorCS1	[43,45]
rodzina białek GGA	transport między TGN a endosomami i lizosomami	SorLA sortilina	[46,47]

receptorów opisano w przebiegu epilepsji [35], chorobie dwubiegunowej [14], depresji [54] oraz różnego rodzaju zaburzeniach poznawczych [19]. W niniejszej sekcji zostanie opisana rola receptorów VPS10P w sygnalizacji zależnej od neurotrofin, degeneracji czołowo-skroniowej oraz chorobie Alzheimerera.

#### FUNKCJA RECEPTORÓW Z DOMENĄ VPS10P W SYGNALIZACJI NEUROTROFICZNEJ

Neurotrofiny (ang. *neurotrophins*, NTs) stanowią rodzinę białek odgrywających kluczową rolę w rozwoju układu nerwowego, a także w regulacji plastyczności synaptycznej, regeneracji neuronów oraz wydłużaniu aksonów i dendrytów. Do grupy tej zalicza się czynnik wzrostu nerwów (ang. *nerve growth factor*, NGF), BDNF, a także neurotrofinę 3 - NT-3, oraz neurotrofinę 4 - NT-4 [55]. Dojrzałe neurotrofiny powstają w wyniku cięcia proteolitycznego ich form prekursorowych, pro-neurotrofin (ang. *proneurotrophins*, pro-NTs) zachodzącego w siateczce śródplazmatycznej oraz aparacie Golgiego [56,57]. Podobnie jak neurotrofiny, pro-NTs także mogą aktywować odpowiednie receptory, co ma znaczenie podczas rozwoju układu nerwowego [58,59].

Swoje funkcje neurotrofiny spełniają poprzez aktywowanie receptorów z rodziny Trk (ang. *tropomyosin-related kinase receptor*) [60]. Do receptora TrkA wiążą się NGF i NT-3, do TrkB - BDNF i NT-4, z kolei TrkC aktywowany jest przez NT-3 [61]. Dimeryzacja receptorów z rodziny Trk odbywająca się na skutek wiązania neurotrofin jest kluczowa w aktywacji procesów związanych z różnicowaniem, przetrwaniem komórek nerwowych, a także rozwojem ich neurytów [62].

Ważny element w kontekście sygnalizacji neurotroficznej stanowi także receptor neurotrofinowy p75 (ang. *p75 neurotrophin receptor*, p75NTR). Efekty jego pobudzenia przez neurotrofiny oraz ich pro-formy w dużej mierze zależą od oddziaływania p75NTR z ko-receptorami. Wiązanie na powierzchni błony komórkowej receptorów Trk przez p75NTR powoduje bowiem zwiększenie ich powinowactwa do neurotrofin, co promuje efekty troficzne. Z kolei w przypadku braku receptorów Trk w komórkach docelowych, pobudzenie jedynie p75NTR może prowadzić do inicjacji apoptozy. Aktywacja ścieżek apoptotycznych przez pro-neurotrofiny za pośrednictwem p75NTR stanowi ważny element podczas prawidłowego rozwoju OUN, prowadząc do redukcji ilości połączeń synaptycznych. Odpowiada również za indukowanie śmierci neuronów uszkodzonych na skutek padaczki, choroby Alzheimerera lub stanu zapalnego [62,63].

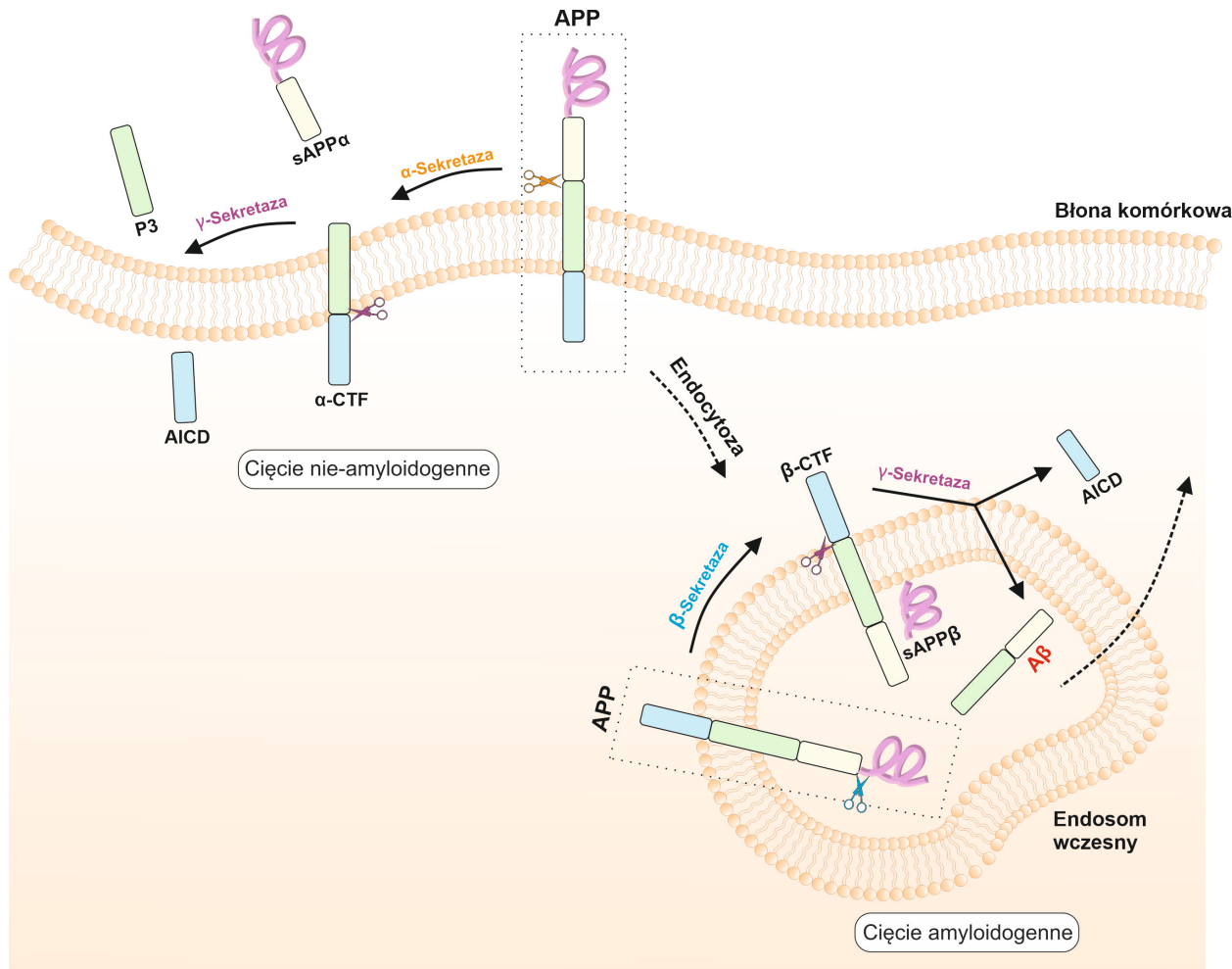
Ważną rolę w indukcji apoptozy neuronów ma sortilina, która stanowi kluczowy element w oddziaływaniach pro-neurotrofin z p75NTR. Dowodzą tego eksperymenty przeprowadzone w warunkach *in vitro*, gdzie neurony zwoju szyjnego górnego, pochodzące ze zwierząt pozbawionych genu kodującego sortilinę nie ulegały apoptozie po traktowaniu pro-BDNF oraz pro-NGF. Przeciwny efekt zaobserwowano natomiast w komórkach pochodzących z myszy typu dzikiego (ang. *wild type*) poddanych takiemu samemu traktowaniu [62]. Dodatkowym dowodem potwierdzającym istotną rolę sortiliny w indukcji neuronalnej apoptozy

jest wpływ neurotensyny na neurony w hodowli *in vitro*. Neurotensyna, blokując wiązanie pro-NTs przez sortilinę, powoduje zahamowanie aktywacji procesów apoptotycznych [64].

Rola sortiliny w kontekście sygnalizacji zależnej od neurotrofin nie ogranicza się jedynie do oddziaływań z receptorem p75NTR. Wykazano, że receptor ten reguluje także wydzielanie BDNF na drodze sekrecji regulowanej m.in. w neuronach hipokampalnych. Interakcja między sortiliną a neurotrofiną zostaje zaburzona, kiedy zamiast waliny w pozycji 66 łańcucha aminokwasowego BDNF występuje metionina (Val66Met) [65]. Występowanie tej mutacji zostało powiązane z rozwojem zaburzeń emocjonalnych i poznawczych, które mogą przekładać się na rozwój depresji, padaczki i schizofrenii [66]. Sortilina, poprzez interakcję z białkiem HAP1 (ang. *huntingtin associated protein 1*) wpływa także na komórkowy transport niedojrzałej formy BDNF. Wyciszenie ekspresji HAP1 prowadzi bowiem do skierowania kompleksu sortilina:pro-BDNF na drogę lizosomalnej degradacji, hamując tym samym wydzielanie dojrzałej formy neurotrofiny [65,67]. Co więcej, sortilina reguluje również komórkowy transport receptorów Trk z ciała komórki nerwowej do zakończenia aksonu, gdzie są one zdolne pełnić swoje funkcje. Neurony tworzące zwój korzeni grzbietowych nerwów rdzeniowych (ang. *dorsal root ganglion*, DRG) pochodzące z myszy *Sort1<sup>-/-</sup>*, w warunkach *in vitro* charakteryzowały się krótszymi o ok. 30% neurytami w porównaniu z komórkami nerwowymi myszy typu dzikiego. Wykazano, że efekt ten związany był z upośledzonym transportem receptorów Trk do ich zakończeń [68].

W transport receptorów dla neurotrofin zaangażowane jest także białko SorCS2, które odpowiada za transport TrkB i p75NTR w obręb błony postsynaptycznej, co wpływa na procesy długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (ang. *long term potentiation*, LTP) oraz długotrwałego osłabienia synaptycznego (ang. *long term depression*, LTD). Stwierdzono, że neurony hipokampalne pochodzące z myszy pozbawionych genu *Sorcs2* charakteryzowały się zmniejszoną gęstością kolców dendrytycznych. Ponadto, zwierzęta te miały obniżoną zdolność uczenia się oraz trudności w utrzymywaniu pamięci przestrzennej [69]. Z użyciem hodowli neuronów hipokampalnych opisany został również udział SorCS2 w zależnym od pro-NGF hamowaniu powstawania nowych połączeń synaptycznych. Interakcja pro-NGF z kompleksem SorCS2:p75NTR prowadziła bowiem do zablokowania procesów związanych z przebudową cytoszkieletu w stożkach wzrostu neurytów, uniemożliwiając ich ekspansję [70].

Należy wspomnieć, że również SorLA pełni kluczową rolę w regulacji sygnałów neurotroficznych. Neurony pochodzące z myszy pozbawionych genu kodującego SorLA po stymulacji BDNF w warunkach *in vitro* wykazywały obniżoną aktywację ścieżek zależnych od tej neurotrofiny w porównaniu z neuronami pochodzącymi od zwierząt typu dzikiego [71]. SorLA reguluje także sygnalizacyjne szlaki komórkowe zależne od czynnika neurotroficznego pochodzenia glejowego (ang. *glial cell-line-derived neurotrophic factor*, GDNF), wspierającego przeżycie neuronów, pośrednicząc w jego wydzielaniu [72]. Ponadto, SorLA oddziałuje



Rycina 3. Schemat cięcia proteolitycznego APP z zaznaczeniem cięcia nie-amyloidogennego zachodzącego w obrębie błony komórkowej oraz amyloidogennego, zachodzącego w świetle wczesnych endosomów.

z receptorem dla GDNF, GFR $\alpha$ 1 (ang. *GDNF-receptor alpha 1*). Internalizując do wnętrza neuronu kompleks białkowy tworzony przez GDNF i jego receptor, uniemożliwia nadmierną aktywację procesów od nich zależnych [73].

Receptory SorCS1 oraz SorCS3 są z kolei zaangażowane w sygnalizację neurotroficzną zależną od TrkB, która stanowi kluczowy element prawidłowego funkcjonowania neuronów podwzgórza, struktury mózgu zaangażowanej w regulację metabolizmu. Wykazano, że jednym ze skutków delekcji genów kodujących oba receptory VPS10P była zwiększona otyłość myszy w porównaniu z myszami typu dzikiego. Efekt ten spowodowany był wzmożonym poborem pokarmu, obniżoną aktywnością motoryczną, a także nasilonym wykorzystaniem węglowodanów jako głównego źródła energii zamiast tłuszczów. Molekularny mechanizm wyżej opisanych zjawisk związany jest z obniżonym poziomem receptora TrkB na powierzchni neuronów podwzgórza, co w konsekwencji wzmacnia ekspresję neuropeptydu AgRP, regulującego procesy metaboliczne [74].

#### SORLA JAKO CZYNNIK PROTEKCYJNY W PRZEBIEGU CHOROBY ALZHEIMERA

Choroba Alzheimera (ang. *Alzheimer's disease, AD*) to najczęstszą przyczyną demencji starczej, charakteryzująca

się postępującą utratą zdolności poznawczych. Na skutek rozwijającej się neurodegeneracji, pojawiają się zaburzenia mowy, pamięci oraz zachowania, prowadzące do zupełnej utraty samodzielności, a finalnie do śmierci [75]. Istotny wpływ na wystąpienie choroby mają czynniki genetyczne, stanowiące aż 70% ryzyka rozwoju AD [76]. Za jeden z mechanizmów postępującej w przebiegu choroby neurodegeneracji uważa się odkładanie w tkance mózgowej toksycznego amyloidu beta ( $A\beta$ ), powstającego na skutek proteolitycznego cięcia APP [77]. W neuronach, APP po procesie biosyntezy i modyfikacjach potranslacyjnych dociera do błony komórkowej na drodze egzocytozy [78]. W jej obrębie, na skutek tzw. ścieżki nie-amyloidogennej, białko podlega cięciu przez  $\alpha$ -sekretazę, przez co do środowiska zewnątrzkomórkowego uwolniony zostaje rozpuszczalny sAPP $\alpha$ , odpowiadający za neuroprotektoryjne i neurotroficzne funkcje APP. W błonie komórkowej pozostaje natomiast 83-aminokwasowy C-koniec białka (ang. *C-terminal fragment,  $\alpha$ -CTF*), inaczej zwany białkiem C83. W następnym etapie podlega on działaniu  $\gamma$ -sekretazy, na skutek czego do przestrzeni zewnątrzkomórkowej uwolniony zostaje kilkudziesięcio-aminokwasowy peptyd, p3, z kolei do cytoplazmy trafia fragment AICD (ang. *APP intracellular domain*) [77,79,80].



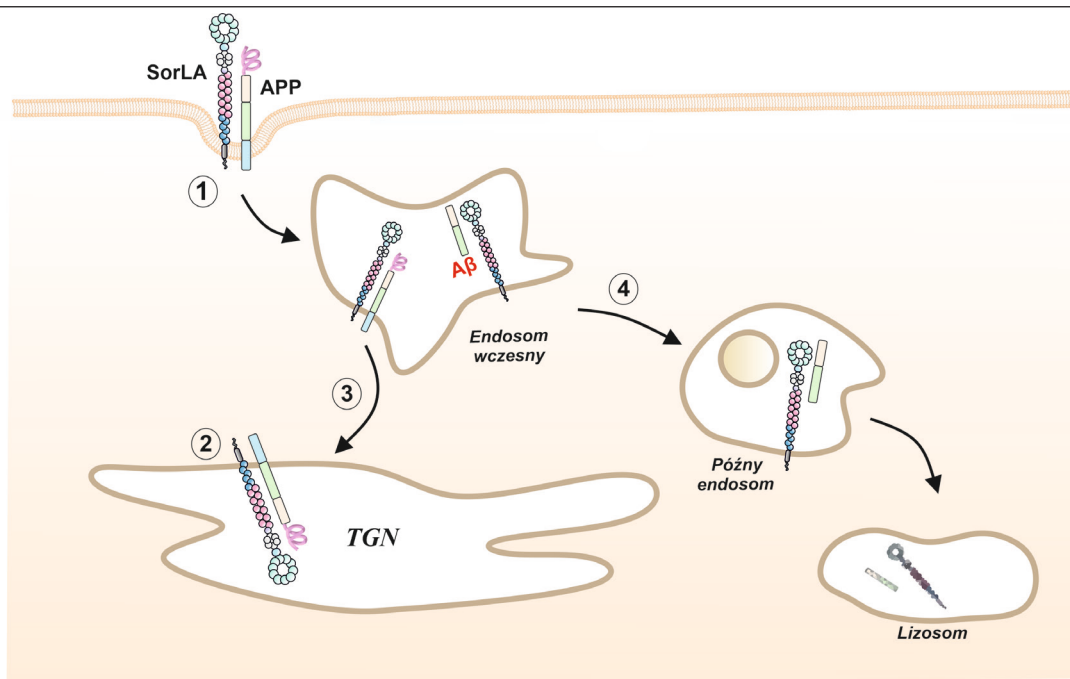
Cząsteczki APP, które nie uległy cięciu na drodze nie-amyloidogennej ulegają internalizacji na drodze endocytozy zależnej od klatryny [81]. W kwaśnym środowisku endosomów,  $\beta$ -sekretaza, inaczej określana jako BACE1 (ang. *beta site APP cleaving enzyme 1*), tnie APP, na skutek czego powstają sAPP $\beta$  oraz  $\beta$ -CTF o długości 99 aminokwasów – C99. Ostatni z nich ulega cięciu przez  $\gamma$ -sekretazę, co prowadzi do wytworzenia toksycznego A $\beta$ . BACE1 lokalizuje się głównie we wczesnych i późnych endosomach, w związku z czym to właśnie te organelle uważa się za miejsce amyloidogenego przetwarzania APP [79]. Wydzielone monomeryczne cząsteczki A $\beta$  agregują w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, co skutkuje utworzeniem blaszek amyloidowych. Zmieniają one strukturę synaps, prowadząc tym samym do zaburzeń w komunikacji neuronalnej, a ostatecznie do śmierci neuronów [78,82]. Schemat cięcia APP na drodze amyloidogennej i nie-amyloidogennej został przedstawiony na rycinie 3.

Rodzaj cięcia proteolitycznego jakiemu zostanie poddane APP zależy więc od regulacji jego komórkowego transportu. Podczas gdy lokalizowanie w obrębie błony komórkowej zapobiega jego cięciu na drodze amyloidogennej, endocytoza związana jest z ryzykiem wytworzenia toksycznego A $\beta$ . Jeśli więc w komórce zaczną przeważać procesy związane z internalizacją APP, ryzyko produkcji większych ilości A $\beta$  zwiększy się [83]. W związku z tym zarówno przyczyn rozwoju AD, jak i potencjalnych punktów uchwytu terapii, zaczęto doszukiwać się w transporcie komórkowym APP [52,84]. Co ciekawe, jako czynnik zwiększający ryzyko rozwoju choroby określono mutacje w genie *SORL1* [85]. Wśród funkcjonalnych konsekwencji zmian w jego sekwencji można wyróżnić m.in. powstawanie niedojrzałej formy receptora lub jego nieprawidłowe lokalizowanie w komórce [86,87]. Wiele przeprowadzonych niezależnie badań za-

równo *in vitro* jak i *in vivo* wykazało, że APP stanowi ligand wiązany przez SorLA. Nadekspresja receptora w neuronalnych i nie-neuronalnych liniach komórkowych prowadziła bowiem do znacznego zmniejszenia produkcji toksycznego A $\beta$  [86,88–90] co dowodzi protekcyjnej funkcji SorLA w kontekście przetwarzania APP. Znaczenie SorLA w AD udowodniono także wykorzystując mózgi zmarłych pacjentów, gdzie potwierdzono zmniejszoną ilość receptora, m.in. w korze mózgowej oraz hipokampie w porównaniu z mózgiami osób zdrowych. Właśnie te struktury, zaangażowane w zdolności poznawcze, w głównej mierze ulegają neurodegradacji w przebiegu choroby [91,92].

Protekcyjne właściwości SorLA w kontekście AD związane są z jej zaangażowaniem w komórkowy transport zarówno APP, jak i A $\beta$  (Ryc. 4) (szczegółowy opis tego zjawiska został przedstawiony w pracy przeglądowej [92]). SorLA, poprzez kierowanie internalizowanego APP do TGN, zapobiega jego zatrzymaniu w świetle endosomów, gdzie mogłoby podlegać cięciu proteolitycznemu na skutek aktywności BACE1 [25]. Co więcej, SorLA jako receptor zlokalizowany w TGN zatrzymuje APP w tym organelum, co uniemożliwia jego cięcie zarówno na drodze nie-amyloidogennej, jak i amyloidogennej [89]. Jeżeli APP ulegnie jednak cięciu do A $\beta$ , SorLA może kierować go na drogę lizosomalnej degradacji [23]. W wiązaniu APP oraz A $\beta$  przez SorLA zaangażowane są dwie różne domeny receptora. W transporcie pierwszego z nich kluczowe znaczenie ma klastera CR. Komórki linii SH-SY5Y transfekowane zmutowaną wersją SorLA pozbawioną tego klastra nie były w stanie wiązać APP, co prowadziło do wzmózonej produkcji A $\beta$  [89]. Z kolei kierowanie A $\beta$  na drogę lizosomalnej degradacji przez SorLA odbywa się za pośrednictwem domeny VPS10P [23].

Kluczowym elementem zapobiegającym cięciu APP na drodze amyloidogennej za pośrednictwem SorLA są in-



**Rycina 4.** Protekcyjne funkcje SorLA w kontekście transportu APP i zapobieganiu jego cięciu na drodze amyloidogennej: 1 – endocytoza APP z powierzchni błony komórkowej; 2 – transport wsteczny APP z endosomu wczesnego do światła TGN; 3 – zatrzymywanie APP w świetle TGN; 4 – kierowanie powstałego we wczesnych endosomach A $\beta$  do degradacji lizosomalnej.

terakcje receptora z białkami adaptorowymi kompleksu retromeru [52]. Eksperymenty *in vitro* z wykorzystaniem linii SH-SY5Y wykazały, że mutacja w obrębie domeny cytoplazmatycznej SorLA, obejmująca fragment F<sup>2172</sup>ANSHY, uniemożliwia wiązanie białka VPS26 stanowiącego składnik retromeru. Następnym substytucji wszystkich sześciu aminokwasów na alaninę była wzmożona produkcja Aβ [40]. Najnowsze dane wskazują, że dla występowania interakcji receptora z retromerem, promującej transport wsteczny APP i ograniczającej powstawanie Aβ, istotna jest dimeryzacja SorLA zachodząca w obrębie endosomów [28]. Ważne są także interakcje SorLA z białkami adaptorowymi z rodziny GGA, które wiążąc sekwencję aminokwasową D<sup>2207</sup>DVPMVIA receptora uczestniczą w transporcie pomiędzy endosomami a TGN [52]. Skutki zaburzenia tego oddziaływania zostały wykazane z wykorzystaniem linii komórkowej CHO-K1, którą zmodyfikowano tak, aby ekspresji w nich ulegała wersja SorLA zmutowana w miejscu wiązania białek GGA. APP preferencyjnie lokalizowało się wówczas w obrębie błony komórkowej, podczas gdy komórki z niezmutowaną wersją SorLA wykazywały zwiększoną ilość APP w TGN [88]. Istotności wiązania przez SorLA białek adaptorowych w kontekście sortowania APP dowodzą także eksperymenty *in vivo*. Wykorzystano w nich myszy model AD z mutacjami w obrębie genu *Sorl1*, które uniemożliwiały wiązanie przez receptor białek GGA oraz kompleksu retromeru. Zaburzenie interakcji pomiędzy receptorem a białkami GGA skutkowało zahamowaniem lizosomalnej degradacji Aβ, z kolei brak funkcjonalnej sekwencji odpowiedzialnej za wiązanie kompleksu retromeru prowadził do wzmożonego zatrzymywania APP w świetle endosomów i jego amyloidogennego cięcia [47].

#### ROLA SORTILINY W PRZEBIEGU DEGENERACJI CZOŁOWO-SKRONIOWEJ

Degeneracja czołowo-skroniowa (ang. *frontotemporal lobar degeneration*, FTLD) to ogólna nazwa zespołu chorób neurodegeneracyjnych, związanych z postępującą atrofią płatów czołowych i skroniowych, prowadzących do powstania drastycznych zmian osobowości oraz postępujących zaburzeń mowy. FTLD uważa się za drugą, tuż po AD, najpowszechniejszą przyczynę demencji u osób między 45 a 60 rokiem życia, przy czym około 40% przypadków ma podłoże genetyczne [94–96]. Postępująca podczas rozwoju choroby neurodegeneracja w wielu przypadkach spowodowana jest mutacjami w genie *GRN* kodującym progranulinę [97–99]. Progranulina to glikoproteina wydzielana głównie przez neurony i aktywowane komórki mikrogleju, pełniąca wiele istotnych funkcji związanych z rozwojem neurytów, cyklem komórkowym, odpowiedzią odpornościową czy regulacją pracy lizosomów [96]. Mutacje w genie *GRN* są haploinsuficyjne. Oznacza to, że produkcja białka pochodzącego z niezmutowanej wersji allelu nie jest wystarczająca do zniwelowania skutków związanych z powstawaniem zmutowanej wersji białka. W rozwoju FTDL, gdzie obserwuje się obniżoną lub całkowitą utratę funkcjonalności progranuliny, wzmożone procesy prozapalne prowadzą do neurodegeneracji, a w konsekwencji rozwoju objawów klinicznych choroby [98,100].

Sortilina, wiążąc na powierzchni komórek nerwowych progranulinę, uczestniczy w jej endocytozie i kierowaniu na drogę lizosomalnej degradacji, obniżając tym samym poziom aktywnej glikoproteiny. Receptor stanowi więc ważny czynnik sprzyjający rozwojowi FTDL [100,101]. Dowodzą tego eksperymenty *in vivo*, gdzie wykazano, że myszy *Sort1<sup>-/-</sup>* posiadające dwa allele kodujące prawidłową wersję genu *Grn* wykazywały zwiększoną ilość progranuliny w mózgu oraz krwi w porównaniu do myszy typu dzikiego. Myszy *Sort1<sup>-/-</sup>* będące heterozygotami *Grn<sup>+/-</sup>* również wykazywały zwiększony poziom progranuliny w odniesieniu do gryzoni niemodyfikowanych genetycznie, mimo, że posiadały jedynie jeden allel kodujący glikoproteinę. Dowodzi to istotności sortiliny w regulowaniu jej wydzielania [102]. Badania *in vitro* z wykorzystaniem indukowanych komórek macierzystych wygenerowanych z komórek somatycznych pacjentów cierpiących na FTDL wykazały natomiast, że użycie inhibitorów zaburzających interakcje między sortiliną a progranuliną powoduje zablokowanie endocytozy glikoproteiny i jej lizosomalnej degradacji. W konsekwencji prowadzi to do zwiększenia ilości progranuliny w środowisku zewnątrzkomórkowym [103]. Uniemożliwienie zajścia interakcji między sortiliną a progranuliną stało się więc przedmiotem wielu badań nad potencjalnymi terapiami FTDL. Obecnie trzy związki farmakologiczne blokujące wiązanie progranuliny przez sortilinę testowane są w badaniach klinicznych (NCT04111666, NCT04374136, NCT03987295) [101].

#### FUNKCJE RECEPTORÓW Z DOMENĄ VPS10P POZA OUN

Receptory VPS10P pełnią także istotne funkcje poza OUN. W tym kontekście należy podkreślić znaczenie SorLA i sortiliny w regulacji procesów metabolicznych, przede wszystkim gospodarki lipidowej i węglowodanowej. Ten aspekt aktywności receptorów ma istotne konsekwencje dla rozwoju otyłości i chorób sercowo-naczyniowych.

#### SORLA JAKO CZYNNIK RYZYKA ROZWOJU MIAŻDŻYCY I OTYŁOŚCI

Miażdżycy to przewlekła choroba sercowo-naczyniowa, w przebiegu której w naczyniach krwionośnych odkładają się złogi tłuszczowe, czemu towarzyszy przewlekły stan zapalny. Dodatkowo, na skutek proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, dochodzi do zwężenia ich światła, co prowadzi do utrudnionego przepływu krwi [104]. Jednym z głównych czynników ryzyka rozwoju miażdżycy jest otyłość, a SorLA wpływając na procesy związane z metabolizmem tłuszczów, wydaje się stanowić ważny element w rozwoju obu chorób [19].

Jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za promowanie przez SorLA procesów miażdżycowych jest jej interakcja z receptorem uPAR (ang. *urokinase-type plasminogen activator receptor*) i transportowanie go do powierzchni błony komórkowej mięśni gładkich budujących ściany naczyń krwionośnych. Błonowa lokalizacja uPAR promuje podziały komórek mięśni gładkich, co skutkuje pogrubieniem ścian naczyń krwionośnych [105]. SorLA zaangażowana jest także w rozwój procesów miażdżycowych poprzez wpływ na



ilość krążących we krwi triglicerydów w postaci lipoprotein o niskiej gęstości (ang. *low density lipoproteins*, LDL), które stanowią materiał budulcowy blaszek miażdżycowych. Lipaza lipoproteinowa (ang. *lipoprotein lipase*, LPL), hydrolicująca triglicerydy do wolnych kwasów tłuszczowych, jest wiązana przez SorLA i kierowana na drogę lizosomalnej degradacji. Skutkuje to obniżonym poziomem LPL w środowisku zewnątrzkomórkowym, a co za tym idzie, wyższym stężeniem cząsteczek tłuszczowych tworzących złogi miażdżycowe w krwioobiegu [19,106].

Wpływ SorLA na promowanie procesów związanych z nadmiernym gromadzeniem tkanki tłuszczowej został dotychczas wyjaśniony co najmniej na dwa sposoby. Pierwszy z nich związany jest z rolą receptora w białej tkance tłuszczowej. W tworzących ją komórkach, SorLA uczestniczy w transporcie receptora insulinowego do błony komórkowej. Nasila to procesy związane z sygnalizacją insulinową, co skutkuje m.in. zahamowaniem lipolizy. W konsekwencji dochodzi do wzmożonego gromadzenia w komórkach cząsteczek tłuszczowych i rozwoju nadwagi. Zaangażowanie SorLA w te procesy zostało udowodnione w warunkach *in vivo*. Stosowanie diety wysokotłuszczowej u trzech grup zwierząt: typu dzikiego, *Sor11*<sup>-/-</sup> oraz wykazujących nadekspresję ludzkiego genu *SORL1* w adipocytach dowiodło, że te ostatnie charakteryzowały się największym przyrostem masy ciała. Myszy pozbawione SorLA nie wykazywały natomiast zmian w masie ciała pod wpływem diety wysokotłuszczowej. Efekty te powiązano bezpośrednio z sygnalizacją insulinową w białej tkance tłuszczowej. Zwierzęta z adipocytarną nadekspresją SorLA cechowały się bowiem najwyższym poziomem białek powiązanych z jej aktywacją [107]. SorLA przyczynia się także do rozwoju otyłości u myszy poprzez wpływ na zależne od sygnalizacji insulinowej podziały komórek progenitorowych trzewnej tkanki tłuszczowej następujące po stosowaniu diety wysokotłuszczowej [108].

Kolejną koncepcją tłumaczącą wpływ SorLA na rozwój otyłości jest działanie jej ektodomeny w brunatnej tkance tłuszczowej. Wykazano, że może ona wpływać na zahamowanie procesów termogenezy, ograniczając tym samym przekształcenie dostarczonej w pożywieniu energii w ciepło. Eksperymenty *in vivo* wykazały, że myszy typu dzikiego charakteryzowały się zwiększoną masą ciała w porównaniu z myszami *Sor11*<sup>-/-</sup> ze względu na wiązanie ektodomeny SorLA do receptorów z grupy BMP (ang. *bone morphogenic proteins*). Wpływało to hamująco na aktywację ścieżek sygnalowych związanych z termogenezą w brunatnej tkance tłuszczowej [51].

Mimo, że przytoczone przykłady zaangażowania SorLA w procesy związane z rozwojem otyłości dotyczą modeli zwierzęcych, receptor prawdopodobnie pełni tę samą rolę u ludzi. Dowiedziono, że wraz ze wzrostem wskaźnika masy ciała – BMI (ang. *body mass index*) ilość SorLA w trzewnej tkance tłuszczowej wzrasta, zarówno na poziomie transkrypty jak i białka [107].

Jedną z głównych przyczyn rozwoju chorób sercowo-naczyniowych stanowi hipercholesterolemia, objawiająca się zwiększonym poziomem cholesterolu związanego z lipoproteinami o niskiej gęstości (ang. *low density lipoprotein cholesterol*, LDL-C) we krwi. Znaczący wpływ na rozwój hipercholesterolemii ma tryb życia, dieta oraz płeć, jednak istotnym czynnikiem są także predyspozycje genetyczne [109,110]. W kontekście hipercholesterolemii dziedzicznej dużą uwagę poświęca się fragmentowi chromosomu 1 (1p13.3), obejmującemu m.in. gen *SORT1*, który koduje sortilinę. Polimorfizmy pojedynczego nukleotydu występujące w tym fragmencie chromosomu powiązane ze zwiększoną ilością LDL-C we krwi [111].

Oddziałując z białkowymi nośnikami cząsteczek tłuszczowych – lipoproteinami, sortilina reguluje ich komórkowy transport oraz wychwyty z przestrzeni pozakomórkowej, przez co jest bezpośrednio zaangażowana w metabolizm tłuszczów. Przykładem takiej interakcji jest wiązanie przez sortilinę w komórkach wątroby apoB-100, białkowego komponentu lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (ang. *very low density lipoproteins*, VLDL), która stanowiąc formę prekursorową LDL bierze udział w regulacji wydzielania LDL-C [112,113]. Określenie jednoznacznej funkcji sortiliny w rozwoju hipercholesterolemii pozostaje jednak wciąż problematyczne, ze względu na opublikowane w tym temacie przeciwstawne wyniki badań [114].

Pierwsze eksperymenty *in vitro* przeprowadzone na linii komórkowej HEK293 wykazały, że nadprodukcja sortiliny promuje zwiększony pobór LDL-C z podłoża hodowlanego. Na tej podstawie wysnuto hipotezę, że sortilina w żywym organizmie także może wpływać na pobieranie przez komórki wątroby LDL-C z krwioobiegu, stanowiąc tym samym potencjalny czynnik chroniący przed rozwojem chorób sercowo-naczyniowych [115]. Kolejne doświadczenia w modelach *in vivo* generowały jednak przeciwstawne do siebie wyniki. Pierwsze z tych badań przeprowadzone z użyciem myszy wykazujących nadekspresję sortiliny w komórkach wątroby wykazało, że poziom LDL-C we krwi zwierząt był znacząco obniżony w porównaniu z myszami typu dzikiego. Z kolei wyciszenie sortiliny w komórkach wątroby wywołało efekt przeciwstawny, tj. znaczący wzrost poziomu LDL-C w krwioobiegu zwierząt [116]. Wnioski wyciągnięte w ramach doświadczeń przeprowadzonych równoległe przez inną grupę badaczy były z kolei odwrotne – myszy *Sor11*<sup>-/-</sup> charakteryzowały się bowiem zmniejszoną ilością LDL-C w krwioobiegu, natomiast nadekspresja ludzkiego genu *SORT1* w komórkach wątroby prowadziła do hipercholesterolemii [117].

Źródła różnic związanych z otrzymywaniem tych przeciwstawnych wyników może być wiele. Znaczenie z pewnością ma fakt, czy wyciszenie bądź nadekspresja sortiliny jest tkankowo specyficzna, czy też obejmuje wszystkie komórki organizmu. Kluczowe również wydają się modyfikacje genetyczne sortiliny w celu wywołania jej nadekspresji, np. dodawanie do jej C-końca dodatkowych sekwencji aminokwasowych, które mogą wpływać na oddziaływanie receptora z białkami adaptorowymi [114]. Nie bez znacze-

nia pozostaje także rodzaj diety stosowanej podczas przeprowadzania doświadczeń *in vivo*, która wywiera ogromny wpływ na funkcje hepatocytów. Dokładny opis potencjalnych przyczyn otrzymywania różnych wyników w kontekście roli sortiliny w rozwoju hipercholesterolemii został przedstawiony w niedawno opublikowanej pracy [118].

Dodatkowy aspekt aktywności sortiliny w metabolizmie tłuszczów stanowi jej udział w regulacji poziomu cholesterolu. Badanie z wykorzystaniem mysiego modelu miażdżycy wykazało, że u myszy płci żeńskiej *Ldlr<sup>-/-</sup> Sort1<sup>-/-</sup>* będących na diecie wysokotłuszczowej i wysokocholesterolowej, wchłanianie cholesterolu w jelitach było zaburzone w porównaniu do myszy niemodyfikowanych genetycznie pod względem genu *Sort1* [119]. Ponadto, sortilina może pośrednio wpływać na regulację poziomu cholesterolu poprzez swój udział w biosyntezie kwasów żółciowych. Wniosek ten nasuwają się na podstawie badań przeprowadzonych z wykorzystaniem myszy *Sort1<sup>-/-</sup>*, u których w porównaniu z myszami typu dzikiego nie stwierdzono uszkodzenia wątroby na skutek stosowania diety wysokocholesterolowej. Efekt ten związany był ze zwiększonym poziomem oddziałującego z sortiliną białka CES1 w hepatocytach myszy *Sort1<sup>-/-</sup>*. Do funkcji tego białka należy m.in. promowanie syntezy kwasów żółciowych [114,120].

#### NOWE KIERUNKI BADAŃ NAD RECEPTORAMI VPS10P

Omówione powyżej funkcje receptorów VPS10P są już dobrze udokumentowane i stały się elementem podstawowej wiedzy o tej grupie białek. W ostatnich latach pojawiły się jednak doniesienia wytyczające nowe interesujące kierunki badań nad ligandami i aktywnością receptorów VPS10P, które podsumowano poniżej.

#### RECEPTORY VPS10P JAKO CELE TERAPEUTYCZNE W CHOROBYCH NOWOTWOROWYCH

Choroby nowotworowe, u których podstaw leżą niekontrolowana proliferacja i wzrost komórek, stanowią jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie [121]. Często opisywaną cechą komórek nowotworowych jest podwyższony poziom EGFR na ich powierzchni, który prowadzi do ich wzmożonej proliferacji, a co za tym idzie, większej agresywności guza i krótszej przeżywalności pacjentów [122]. W ostatnim czasie w warunkach *in vitro* wykazano, że SorLA reguluje transport EGFR na powierzchnię błony komórek nowotworu piersi, co promuje wzrost guza [123]. Wniosek ten został potwierdzony w przeprowadzonych niezależnie badaniach *in vivo* z użyciem mysiego modelu nowotworu piersi. Zastosowanie terapii przeciwciałem monoklonalnym Trastuzumab, swoistym wobec receptora HER2, u myszy z rozwiniętym nowotworem, w połączeniu z przeciwciałem skierowanym przeciwko SorLA, powodowało znaczne obniżenie poziomu proliferacji komórek nowotworowych w porównaniu z myszami leczonymi jedynie Trastuzumabem [124]. Doświadczenia przeprowadzone *in vitro* wykazały, że także sortilina może stanowić jeden z komponentów terapii celowanej w walce z wysoce agresywnym typem nowotworu piersi – tzw. potrójnie ujemnym (ang. *triple-negative breast cancer*, TNBC). Wykazano, że poziom sortiliny w tych komórkach nowotworowych jest znacznie wyższy niż w otaczającej guz zdrowej tkance, co może być wykorzystane

w celu selektywnego dostarczenia leku cytotoksycznego do komórek guza. Dołączenie krótkiego peptydu rozpoznającego sortilinę do standardowo używanych w terapiach przeciwnowotworowych leków – Doksorubicyny i Doxetaxelu, umożliwiło bowiem ich efektywną internalizację do wnętrza komórek nowotworowych [125].

W kontekście badań nad nowotworem prostaty doświadczenia *in vitro* wykazały natomiast, że niska ekspresja sortiliny w liniach komórkowych PC-3 oraz DU145 związana jest ze wzmożonym wydzielaniem pro-nowotworowej progranuliny. Genetyczne modyfikacje komórek prowadzące do nadekspresji sortiliny spowodowały obniżenie ich zdolności proliferacyjnych i migracyjnych, co wiązało się ze zmniejszonym poziomem wydzielanej progranuliny ze względu na jej lizosomalną degradację [126]. Z kolei w przebiegu glejaka wielopostaciowego, poziom ekspresji sortiliny pozytywnie koreluje z agresywnością nowotworów, a co za tym idzie, krótszą przeżywalnością pacjentów. Prawdopodobny molekularny mechanizm tego zjawiska zbadany w warunkach *in vitro* obejmuje zaangażowanie sortiliny w aktywację ścieżki sygnałowej WNT/ $\beta$ -katenina, wpływającej na rozwój guza. Co więcej, podawanie myszom inhibitora sortiliny sprawiło, że guzy nowotworowe powstałe po implantacji ludzkich komórek glejaka były znacząco mniejsze w porównaniu z grupą kontrolą [127].

#### ROLA RECEPTORÓW VPS10P W REGULACJI DZIAŁANIA KOMÓREK UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO

W odpowiedzi na zagrożenie w postaci czynników choroobotwórczych, komórki układu odpornościowego wydzielają do środowiska zewnątrzkomórkowego białka takie jak chemokiny oraz cytokiny, promujące powstanie stanu zapalnego [128]. Sortilina oraz SorLA wydają się pełnić ważne funkcje w tym procesie, wpływając na właściwości komórek odpornościowych poprzez regulację wydzielania niektórych białek biorących udział w odpowiedzi immunologicznej. Wśród tych, w których transport zaangażowana jest sortilina, kluczowe są białka z rodziny interferonów, stanowiące ważny komponent odpowiedzi zapalnej. Sortilina, wiążąc interferon- $\gamma$  promuje jego wydzielanie, przez co stanowi kluczowy element pro-zapalnych właściwości limfocytów T cytotoksycznych (ang. *cytotoxic T lymphocytes*), „naturalnych zabójców” (ang. *natural killers*) oraz limfocytów pomocniczych Th1 (ang. *helper lymphocytes T1*) [129]. Receptor odgrywa także ważną rolę w odpowiedzi przeciwirusowej, wywoływanej przez dendrytyczne komórki plazmocytoidalne (ang. *plasmacytoid dendritic cells*, pDCs), w których reguluje transport interferonu- $\alpha$ . Wyciszenie sortiliny powoduje bowiem zmniejszenie wydzielania cytokiny przez mysie pDCs [130].

Funkcja sortiliny w promowaniu odpowiedzi zapalnej stanowi również ważny element w rozwoju opisanej wcześniej choroby miażdżycowej. Makrofagi oraz limfocyty Th1 pozbawione genu kodującego sortilinę po traktowaniu lipopolisacharydem *in vitro* wydzielają mniej interleukiny-6 oraz interferonu- $\gamma$  niż komórki niemodyfikowane genetycznie. Efekt ten został także zaobserwowany *in vivo* – myszy produkujące w szpiku kostnym komórki odpornościowe *Sort1<sup>-/-</sup>* charakteryzowały się mniejszym poziomem interleukiny-6 we krwi w porównaniu z myszami, u których

sortilina ulegała ekspresji w komórkach układu odpornościowego. Zmniejszony poziom pro-zapalnych cytokin wpływał hamująco na powstawanie zmian miażdżycowych [131].

W kontekście sygnalizacji za pośrednictwem interleukiny-6, również SorLA odgrywa rolę w promowaniu stanu zapalnego. Z wykorzystaniem mysich astrocytów udowodniono, że receptor uczestniczy w transporcie zarówno samej cytokiny, jak i jej receptora (ang. *interleukin 6-receptor*, IL-6R). Ektodomena SorLA, wiążąc interleukinę-6 w środowisku zewnątrzkomórkowym, stanowi czynnik stabilizujący cytokinę, dzięki czemu może ona efektywnie wiązać receptor IL-6R. Co więcej, SorLA uczestniczy w endocytozie kompleksu interleukiny-6 i jej receptora z powierzchni błony komórkowej [132].

## RECEPTORY VPS10P W KOMÓRKACH GLEJOWYCH

Do niedawna uważano, że w OUN rola receptorów VPS10P ogranicza się jedynie do komórek neuronalnych. Ostatnie doniesienia wskazują jednak, że ekspresja receptorów zachodzi także w komórkach glejowych, a jej poziom regulowany jest pod wpływem czynników patologicznych.

Zarówno astrocyty jak i mikroglej, mają znaczący udział w patogenezie chorób neurologicznych. Komórki te w odpowiedzi na choroby i uszkodzenia mózgu ulegają aktywacji mającej na celu ochronę tkanki przed zagrożeniem. Istotą aktywności astrocytów i mikrogleju jest wydzielanie czynników regulujących procesy zapalne, reorganizację macierzy zewnątrzkomórkowej i regenerację tkanki [133,134]. Podobnie jak w przypadku komórek obwodowego układu odpornościowego, sortilina może również promować pro-zapalne właściwości mikrogleju, przy czym opisane zostały co najmniej dwa mechanizmy odpowiedzialne za to zjawisko. Pierwsza koncepcja obejmuje udział sortiliny w zależnej od neurotensyny aktywacji ścieżek sygnałowych związanych z kinazą mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin*). Efektem tego pobudzenia jest wydzielanie przez mikroglej pro-zapalnych cytokin, takich jak CXCL8, CCL2 i CCL5 [35]. Kolejną ważną funkcją sortiliny w kontekście regulacji pro-zapalnych właściwości mikrogleju jest wiązanie przez receptor opisanej wcześniej progranuliny. Progranulina konkurencyjnie oddziałuje z tymi samymi receptorami co pro-zapalny TNF $\alpha$ , przez co może hamować aktywację procesów zapalnych. Sortilina wiążąc progranulinę obniża jej poziom w środowisku zewnątrzkomórkowym, przyczynia

**Tabela 2.** Podsumowanie opisanych w tekście ligandów wiązanych przez receptory VPS10P.

Ligand	Funkcja	Znaczenie fizjologiczne/patofizjologiczne	Receptor	Referencja
pro-NGF	pro-neurotrofina	przetrwanie i apoptoza komórek nerwowych	SorCS2 sortilina	[18,64]
BDNF	neurotrofina	przetrwanie komórek nerwowych	sortilina	[65]
HAP1	białko transportowe	regulacja transportu pęcherzykowego	sortilina	[67]
TrkA, TrkC	receptory neurotrofin	rozwój neuronalny, modulacja transmisji synaptycznej	sortilina	[68]
TrkB	receptor neurotrofin	rozwój neuronalny, modulacja transmisji synaptycznej	SorLA sortilina SorCS1 SorCS2 SorCS3	[68,69,71,74]
p75NTR	receptor neurotrofin	indukcja apoptozy neuronów	sortilina SorCS2	[64,69]
neurotensyna	neuropeptyd	regulacja systemu dopaminergicznego, schizofrenia, neurodegeneracja, zaburzenia ze spektrum autyzmu	sortilina	[136,137]
APP	białko prekursorowe amyloidu	różnicowanie neuronów, choroba Alzheimerera	SorLA sortilina SorCS1	[89,138,139]
A $\beta$	białko neurotoksyczne	choroba Alzheimerera	SorLA	[23]
progranulina	glikoproteina	rozwój neurytów, regulacja cyklu komórkowego i odpowiedzi odpornościowej oraz pracy lizosomów, degeneracja czołowo-skroniowa	sortilina	[102]
GDNF	czynnik troficzny	przetrwanie komórek nerwowych, choroba Parkinsona	SorLA	[73]
EGFR	receptor dla EGF	przeżywalność komórek, proliferacja, choroby nowotworowe	sortilina	[140]
uPAR	receptor powierzchniowy aktywatora plazminogenu urokinazy	podziały komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, miażdżycy	SorLA	[105]
receptor insulinowy	receptor dla insuliny	regulacja procesów metabolicznych	SorLA	[107]
interleukina-6	cytokina pro-zapalna	promowanie odpowiedzi zapalnej	SorLA sortilina	[131,132]
endostatyna	domena kolagenu XVIII	regulacja angiogenezy, udar niedokrwienny	SorCS2	[32]
apoB100	składnik lipoprotein	białkowy nośnik cząsteczek tłuszczowych	sortilina	[118]
CES1	hydrolaza estrów cholesterolu i triglicerydów	synteza kwasów żółciowych	sortilina	[120]
interferon- $\gamma$	cytokina pro-zapalna	promowanie odpowiedzi zapalnej	sortilina	[129]
interferon- $\alpha$	cytokina pro-zapalna	promowanie odpowiedzi zapalnej	sortilina	[130]



nając się tym samym do rozwoju pro-zapalnej odpowiedzi mikrogleju [135].

Przykładem zaangażowania receptora VPS10P w regulację aktywności astrocytów jest z kolei wpływ SorCS2 na właściwości tych komórek po przebytych udarze niedokrwinnym. W warunkach fizjologicznych SorCS2 nie ulega ekspresji w astrocytach. Zarówno u ludzi, jak i w modelu mysim, białko SorCS2 pojawia się jednak w astrocytach aktywowanych w odpowiedzi na niedokrwienie mózgu, kiedy komórki te są zaangażowane w procesy zapalne oraz w regenerację. Z wykorzystaniem modelu *in vitro* dowiedziono, że obecność SorCS2 w astrocytach promuje wydzielanie przez nie endostatyny, czynnika regulującego tworzenie naczyń krwionośnych. Jednocześnie myszy pozbawione SorCS2 wykazywały zaburzoną angiogenezę poudarową, co wskazuje na kluczową rolę receptora podczas odbudowy zniszczonej tkanki [32].

## PODSUMOWANIE

Receptory VPS10P stanowią ważny element przyczyniający się do utrzymywania homeostazy organizmu. Poprzez regulację procesów komórkowych w OUN oraz w tkankach obwodowych, wpływają m. in. na prawidłowe przewodnictwo nerwowe, przebieg przemian metabolicznych, jak również na rozwój odpowiedzi immunologicznej oraz aktywność komórek glejowych. Podsumowanie omówionych w tekście ligandów wiązanych przez receptory VPS10P oraz znaczenie tych interakcji w kontekście utrzymywania homeostazy lub rozwoju chorób przedstawiono w tabeli 2. Co istotne, aktywność receptorów VPS10P została powiązana z patogenezą chorób stanowiących wyzwanie dla współczesnej medycyny, w szczególności chorób neurodegeneracyjnych i metabolicznych. Dlatego też dalsze badania mające na celu lepsze poznanie procesów regulowanych przez receptory VPS10P, a także mechanizmów wpływających na ich ekspresję, będą kluczowe dla odkrycia nowych potencjalnych celów terapeutycznych.

## PIŚMIENNICTWO

- Gabaldón T, Pittis AA (2015) Origin and evolution of metabolic sub-cellular compartmentalization in eukaryotes. *Biochimie* 119: 262–268
- Gomez-Navarro N, Miller E (2016) Protein sorting at the ER-Golgi interface. *J Cell Biol* 215: 769–778
- Guo Y, Sirkis DW, Schekman R (2014) Protein sorting at the trans-Golgi network. *Annu Rev Cell Dev Biol* 30: 169–206
- Liang K, Wei L, Chen L (2017) Exocytosis, endocytosis, and their coupling in excitable cells. *Front Mol Neurosci* 10: 109
- Makaraci P, Kim K (2018) Trans-Golgi network-bound cargo traffic. *Eur J Cell Biol* 97: 137–149
- Fujita-Yoshigaki J, Yokoyama M, Katsumata-Kato O (2020) Switching of cargo sorting from the constitutive to regulated secretory pathway by the addition of cystatin D sequence in salivary acinar cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 319: 74–86
- Gadila SKG, Kim K (2016) Cargo trafficking from the trans-Golgi network towards the endosome. *Biol Cell* 108: 205–218
- Scott CC, Vacca F, Gruenberg J (2014) Endosome maturation, transport and functions. *Semin Cell Dev Biol* 31: 2–10
- Doherty GJ, McMahon HT (2009) Mechanisms of endocytosis. *Annu Rev Biochem* 78: 857–902
- Huotari J, Helenius A (2011) Endosome maturation. *EMBO J* 30: 3481–3500

- Kaur G, Lakkaraju A (2018) Early endosome morphology in health and disease, W: Crusio WE, Dong H, Radeke HH, Rezaei N, Steinlein O, Xiao J (red) *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer, New York, str. 335–343
- Lasiecka ZM, Winckler B (2011) Mechanisms of polarized membrane trafficking in neurons - Focusing in on endosomes. *Mol Cell Neurosci* 48: 278–287
- Savas JN, Ribeiro LF, Wierda KD, et al (2015) The sorting receptor SorCS1 regulates trafficking of neuroligin and AMPA receptors. *Neuron* 87:764–780
- Yang J, Ma Q, Dincheva I, et al (2021) SorCS2 is required for social memory and trafficking of the NMDA receptor. *Mol Psychiatry* 26: 927–940
- Malik AR, Willnow TE (2020) VPS10P domain receptors: sorting out brain health and disease. *Trends Neurosci* 43: 870–885
- Marcusson EG, Horazdovsky BF, Cereghino JL, et al (1994) The sorting receptor for yeast vacuolar carboxypeptidase Y is encoded by the VPS10 gene. *Cell* 77(4): 579–586
- Hermey G (2009) The Vps10p-domain receptor family. *Cell Mol Life Sci* 66(16): 2677–2689
- Leloup N, Chataigner LMP, Janssen BJC (2018) Structural insights into SorCS2–Nerve Growth Factor complex formation. *Nat Commun* 9(1): 2979
- Schmidt V, Subkhangelova A, Willnow TE (2017) Sorting receptor SORLA: cellular mechanisms and implications for disease. *Cell Mol Life Sci* 74(8): 1475–1483
- Andersen OM, Vorum H, Thøgersen HC (2003) Ca<sup>2+</sup> binding to complement-type repeat domains 5 and 6 from the low-density lipoprotein receptor-related protein. *BMC Biochem* 4: 7
- Bencharit S, Cui C bin, Siddiqui A, et al (2007) Structural Insights into Fibronectin Type III Domain-mediated Signaling. *J Mol Biol* 367: 303–309
- Huang TY, Zhao Y, Jiang LL, et al (2017) SORLA attenuates EphA4 signaling and amyloid  $\beta$ -induced neurodegeneration. *J Exp Med*. 214(12): 3669–3685
- Caglayan S, Takagi-Niidome S, Liao F, et al (2014) Lysosomal sorting of amyloid- $\beta$  by the SORLA receptor is impaired by a familial Alzheimer's disease mutation. *Sci Transl Med* 6(223): 223ra20
- Andersen OM, Dagil R, Kragelund BB (2013) New horizons for lipoprotein receptors: Communication by  $\beta$ -propellers. *J Lipid Res* 54: 2763–2774
- Willnow TE, Petersen CM, Nykjaer A (2008) VPS10P-domain receptors - Regulators of neuronal viability and function. *Nat Rev Neurosci* 9: 899–909
- Westergaard UB, Sørensen ES, Hermey G, et al (2004) Functional organization of the sortilin Vps10p domain. *J Biol Chem* 279(48): 50221–50229
- Janulienė D, Andersen JL, Nielsen JA, et al (2017) Acidic environment induces dimerization and ligand binding site collapse in the Vps10p domain of sortilin. *Structure* 25: 1809–1819.e3
- Jensen AMG, Kitago Y, Fazeli E, et al. (2023) Dimerization of the Alzheimer's disease pathogenic receptor SORLA regulates its association with retromer. *Proc Natl Acad Sci USA* 120(4): e2212180120
- Jacobsen L, Madsen P, Moestrup SK, et al (1996) Molecular characterization of a novel human hybrid-type receptor that binds the  $\alpha$ 2-macroglobulin receptor-associated protein. *J Biol Chem* 271: 31379–31383
- Hermey G, Plath N, Hübner CA, et al (2004) The three sorCS genes are differentially expressed and regulated by synaptic activity. *J Neurochem* 88: 1470–1476
- Boggild S, Molgaard S, Glerup S, Nyengaard JR (2018) Highly segregated localization of the functionally related vps10p receptors sortilin and SorCS2 during neurodevelopment. *J Comp Neurol* 526: 1267–1286
- Malik AR, Lips J, Gorniak-Walas M, et al (2020) SorCS2 facilitates release of endostatin from astrocytes and controls post-stroke angiogenesis. *Glia* 68: 1304–1316

33. Rohe M, Synowitz M, Glass R, et al (2009) Brain-derived neurotrophic factor reduces amyloidogenic processing through control of SORLA gene expression. *J Neurosci* 29: 15472–15478
34. Ma QL, Teter B, Ubeda OJ, et al (2007) Omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid increases SorLA/LR11, a sorting protein with reduced expression in sporadic Alzheimer's disease (AD): Relevance to AD prevention. *J Neurosci* 27: 14299–14307
35. Malik AR, Szydłowska K, Nizinska K, et al (2019) SorCS2 controls functional expression of amino acid transporter EAAT3 and protects neurons from oxidative stress and epilepsy-induced pathology. *Cell Rep* 26: 2792–2804.e6
36. Patel AB, Tsilioni I, Leeman SE, Theoharides TC (2016) Neurotensin stimulates sortilin and mTOR in human microglia inhibitable by methoxyluteolin, a potential therapeutic target for autism. *Proc Natl Acad Sci USA* 113: E7049–E7058
37. Flynn DC (2001) Adaptor proteins. *Oncogene* 20(44): 6270–6272
38. Nakatsu F, Ohno H (2003) Adaptor protein complexes as the key regulators of protein sorting in the post-Golgi network. *Cell Struct Funct* 28(5): 419–429
39. Canuel M, Lefrancois S, Zeng J, Morales CR (2008) AP-1 and retromer play opposite roles in the trafficking of sortilin between the Golgi apparatus and the lysosomes. *Biochem Biophys Res Commun* 366: 724–730
40. Fjorback AW, Seaman M, Gustafsen C, et al (2012) Retromer binds the FANSHY sorting motif in sorLA to regulate amyloid precursor protein sorting and processing. *J Neurosci* 32: 1467–1480
41. Scott GK, Fei H, Thomas L, et al (2006) A PACS-1, GGA3 and CK2 complex regulates CI-MPR trafficking. *EMBO J* 25: 4423–4435
42. Burgert T, Schmidt V, Caglayan S, et al (2013) SORLA-dependent and -independent functions for PACS1 in control of amyloidogenic processes. *Mol Cell Biol* 33: 4308–4320
43. Nielsen MS, Gustafsen C, Madsen P, et al (2007) Sorting by the cytoplasmic domain of the amyloid precursor protein binding receptor SorLA. *Mol Cell Biol* 27: 6842–6851
44. Canuel M, Lefrancois S, Zeng J, Morales CR (2008) AP-1 and retromer play opposite roles in the trafficking of sortilin between the Golgi apparatus and the lysosomes. *Biochem Biophys Res Commun* 366: 724–730
45. Nielsen MS, Keat SJ, Hamati JW, et al (2008) Different motifs regulate trafficking of SorCS1 isoforms. *Traffic* 9: 980–994
46. Takatsu H, Katoh Y, Shiba Y, Nakayama K (2001) Golgi-localizing,  $\gamma$ -Adaptin Ear Homology Domain, ADP-ribosylation Factor-binding (GGA) Proteins Interact with Acidic Dileucine Sequences within the Cytoplasmic Domains of Sorting Receptors through their Vps27p/Hrs/STAM (VHS) Domains. *J Biol Chem* 276: 28541–28545
47. Dumanis SB, Burgert T, Caglayan S, et al (2015) Distinct functions for anterograde and retrograde sorting of SORLA in amyloidogenic processes in the brain. *J Neurosci* 35: 12703–12713
48. Lichtenthaler SF, Lemberg MK, Fluhrer R (2018) Proteolytic ectodomain shedding of membrane proteins in mammals—hardware, concepts, and recent developments. *EMBO J* 37(15): e99456
49. Hermey G, Sjøgaard SS, Petersen CM, et al (2006) Tumour necrosis factor  $\alpha$ -converting enzyme mediates ectodomain shedding of Vps10p-domain receptor family members. *Biochem J* 395: 285–293
50. Stupack J, Xiong XP, Jiang LL, et al (2020) Soluble SORLA enhances neurite outgrowth and regeneration through activation of the EGF receptor/ERK signaling axis. *J Neurosci* 40: 5908–5921
51. Whittle AJ, Jiang M, Peirce V, et al (2015) Soluble LR11/SorLA represses thermogenesis in adipose tissue and correlates with BMI in humans. *Nat Commun* 6: 8951
52. Wiinow TE, Andersen OM (2013) Sorting receptor SORLA - A trafficking path to avoid Alzheimer disease. *J Cell Sci* 126: 2751–2760
53. Goettsch C, Kjolby M, Aikawa E (2018) Sortilin and Its Multiple Roles in Cardiovascular and Metabolic Diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 38: 19–25
54. Buttenschön HN, Demontis D, Kaas M, et al (2015) Increased serum levels of sortilin are associated with depression and correlated with BDNF and VEGF. *Transl Psychiatry* 5(11): e677
55. Bekinschtein P, von Bohlen und Halbach O (2020) Editorial: Cellular and Molecular Mechanisms of Neurotrophin Function in the Nervous System. *Front Cell Neurosci* 14: 101
56. Nykjaer A, Willnow TE (2012) Sortilin: A receptor to regulate neuronal viability and function. *Trends Neurosci* 35: 261–270
57. Teng KK, Felice S, Kim T, Hempstead BL (2010) Understanding pro-neurotrophin actions: Recent advances and challenges. *Dev Neurobiol* 70: 350–359
58. Lewin GR, Carter BD (2014) Neurotrophic Factors. Preface. *Handb Exp Pharmacol* 220: v-vi
59. Meeker RB, Williams KS (2015) The p75 neurotrophin receptor: At the crossroad of neural repair and death. *Neural Regen Res* 10: 721–725
60. Lewin GR, Nykjaer A (2014) Pro-neurotrophins, sortilin, and nociception. *Eur J Neurosci* 39: 363–374
61. Bothwell M (2019) Recent advances in understanding context-dependent mechanisms controlling neurotrophin signaling and function. *F1000Res* 8: F1000 Faculty Rev-1658
62. Chao M v. (2003) Neurotrophins and their receptors: A convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci* 4: 299–309
63. Jansen P, Giehle K, Nyengaard JR, et al (2007) Roles for the pro-neurotrophin receptor sortilin in neuronal development, aging and brain injury. *Nat Neurosci* 10: 1449–1457
64. Nykjaer A, Lee R, Teng KK, et al (2004) Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death. *Nature* 427: 843–848
65. Chen ZY, Ieraci A, Teng H, et al (2005) Sortilin controls intracellular sorting of brain-derived neurotrophic factor to the regulated secretory pathway. *J Neurosci* 25: 6156–6166
66. Park CH, Kim J, Namgung E, et al (2017) The BDNF val66met polymorphism affects the vulnerability of the brain structural network. *Front Hum Neurosci* 11: 400
67. Yang M, Lim Y, Li X, et al (2011) Precursor of brain-derived neurotrophic factor (proBDNF) forms a complex with huntingtin-associated protein-1 (HAP1) and sortilin that modulates proBDNF trafficking, degradation, and processing. *J Biol Chem* 286: 16272–16284
68. Vaegter CB, Jansen P, Fjorback AW, et al (2011) Sortilin associates with Trk receptors to enhance anterograde transport and neurotrophin signaling. *Nat Neurosci* 14: 54–63
69. Glerup S, Bolcho U, Mlgaard S, et al (2016) SorCS2 is required for BDNF-dependent plasticity in the hippocampus. *Mol Psychiatry* 21: 1740–1751
70. Deinhardt K, Kim T, Spellman DS, et al (2011) Neuronal growth cone retraction relies on proneurotrophin receptor signaling through rac. *Sci Signal* 4(202): ra82
71. Rohe M, Hartl D, Fjorback AN, et al (2013) SORLA-mediated trafficking of TrkB enhances the response of neurons to BDNF. *PLoS One* 8(8): e72164
72. Geng Z, Xu FY, Huang SH, Chen ZY (2011) Sorting protein-related receptor SorLA controls regulated secretion of glial cell line-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem* 286: 41871–41882
73. Glerup S, Lume M, Olsen D, et al (2013) SorLA controls neurotrophic activity by sorting of GDNF and its receptors GFR $\alpha$ 1 and RET. *Cell Rep* 3: 186–199
74. Subkhangulova A, Malik AR, Hermey G, et al (2018) SORCS 1 and SORCS 3 control energy balance and orexigenic peptide production. *EMBO Rep* 19(4): e44810
75. Weller J, Budson A (2018) Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. *F1000Res* 7: F1000 Faculty Rev-1161
76. Lane CA, Hardy J, Schott JM (2018) Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* 25: 59–70
77. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H (2006) Alzheimer's disease. *Lancet* 368(9533): 387–403

78. Chen GF, Xu TH, Yan Y, et al (2017) Amyloid beta: Structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacol Sin* 38: 1205–1235
79. Wang X, Zhou X, Li G, et al (2017) Modifications and trafficking of APP in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Front Mol Neurosci* 10: 294
80. Hefter D, Ludewig S, Draguhn A, Korte M (2020) Amyloid, APP, and Electrical Activity of the Brain. *Neuroscientist* 26: 231–251
81. Wiinow TE, Andersen OM (2013) Sorting receptor SORLA - A trafficking path to avoid Alzheimer disease. *J Cell Sci* 126: 2751–2760
82. Lacor PN, Buniel MC, Furlow PW, et al (2007) A $\beta$  oligomer-induced aberrations in synapse composition, shape, and density provide a molecular basis for loss of connectivity in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 27: 796–807
83. Andersen OM, Schmidt V, Spoelgen R, et al (2006) Molecular dissection of the interaction between amyloid precursor protein and its neuronal trafficking receptor SorLA/LR11. *Biochemistry* 45: 2618–2628
84. Mehmedbasic A, Christensen SK, Nilsson J, et al (2015) SorLA complement-type repeat domains protect the amyloid precursor protein against processing. *J Biol Chem* 290: 3359–3376
85. Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, et al (2007) The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet* 39: 168–177
86. Rovelet-Lecrux A, Feuillette S, Miguel L, et al (2021) Impaired SorLA maturation and trafficking as a new mechanism for SORL1 missense variants in Alzheimer disease. *Acta Neuropathol Commun* 9: 196
87. Vardarajan BN, Zhang Y, Lee JH, et al (2015) Coding mutations in SORL1 and Alzheimer disease. *Ann Neurol* 77: 215–227
88. Schmidt V, Sporbert A, Rohe M, et al (2007) SorLA/LR11 regulates processing of amyloid precursor protein via interaction with adaptors GGA and PACS-1. *J Biol Chem* 282: 32956–32964
89. Andersen OM, Reiche J, Schmidt V, et al (2005) Neuronal sorting protein-related receptor sorLALR11 regulates processing of the amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(38): 13461–13466
90. Spoelgen R, von Arnim CAF, Thomas A v., et al (2006) Interaction of the cytosolic domains of sorLA/LR11 with the amyloid precursor protein (APP) and  $\beta$ -secretase  $\beta$ -site APP-cleaving enzyme. *J Neurosci* 26: 418–428
91. Dodson SE, Gearing M, Lippa CF, et al (2006) LR11/SorLA expression is reduced in sporadic Alzheimer disease but not in familial Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 65: 866–872
92. Scherzer CR, Offe K, Gearing M, et al (2004) Loss of Apolipoprotein E Receptor LR11 in Alzheimer Disease. *Arch Neurol* 61(8): 1200–1205
93. Salasova A, Monti G, Andersen OM, Nykjaer A (2022) Finding memo: versatile interactions of the VPS10p-Domain receptors in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 17(1): 74
94. Zheng Y, Brady OA, Meng PS, et al (2011) C-terminus of progranulin interacts with the beta-propeller region of sortilin to regulate progranulin trafficking. *PLoS One* 6(6): e21023
95. Huber N, Korhonen S, Hoffmann D, et al (2021) Deficient neurotransmitter systems and synaptic function in frontotemporal lobar degeneration—Insights into disease mechanisms and current therapeutic approaches. *Mol Psychiatry* 27(3): 1300–1309
96. Petkau TL, Leavitt BR (2014) Progranulin in neurodegenerative disease. *Trends Neurosci* 37: 388–398
97. Jo M, Lee S, Jeon YM, et al (2020) The role of TDP-43 propagation in neurodegenerative diseases: integrating insights from clinical and experimental studies. *Exp Mol Med* 52: 1652–1662
98. Beel S, Herdewyn S, Fazal R, et al (2018) Progranulin reduces insoluble TDP-43 levels, slows down axonal degeneration and prolongs survival in mutant TDP-43 mice 11 Medical and Health Sciences 1109 Neurosciences. *Mol Neurodegener* 13(1): 55
99. Rabinovici GD, Miller BL (2010) Frontotemporal lobar degeneration: Epidemiology, pathophysiology, diagnosis and management. *CNS Drugs* 24: 375–398
100. Miyakawa S, Sakuma H, Warude D, et al (2020) Anti-sortilin1 Antibody Up-Regulates Progranulin via Sortilin1 Down-Regulation. *Front Neurosci* 14: 586107
101. Du H, Zhou X, Feng T, Hu F (2022) Regulation of lysosomal trafficking of progranulin by sortilin and prosaposin. *Brain Commun* 4(1): fcab310
102. Hu F, Padukkavidana T, Vægter CB, et al (2010) Sortilin-mediated endocytosis determines levels of the frontotemporal dementia protein, progranulin. *Neuron* 68: 654–667
103. Lee WC, Almeida S, Prudencio M, et al (2014) Targeted manipulation of the sortilin-progranulin axis rescues progranulin haploinsufficiency. *Hum Mol Genet* 23: 1467–1478
104. Zhu Y, Xian X, Wang Z, et al (2018) Research progress on the relationship between atherosclerosis and inflammation. *Biomolecules* 8(3): 80
105. Zhu Y, Bujo H, Yamazaki H, et al (2004) LR11, an LDL receptor gene family member, is a novel regulator of smooth muscle cell migration. *Circ Res* 94: 752–758
106. Klinger SC, Glerup S, Raarup MK, et al (2011) SorLA regulates the activity of lipoprotein lipase by intracellular trafficking. *J Cell Sci* 124: 1095–1105
107. Schmidt V, Schulz N, Yan X, et al (2016) SORLA facilitates insulin receptor signaling in adipocytes and exacerbates obesity. *J Clin Invest* 126(7): 2706–2720
108. Schmidt V, Horváth C, Dong H, et al (2021) Sorla is required for insulin-induced expansion of the adipocyte precursor pool in visceral fat. *J Cell Biol* 220(12): e202006058
109. Alonso R, Argüeso R, Álvarez-Baños P, et al (2022) Familial Hypercholesterolemia and Lipoprotein(a): Two Partners in Crime? *Curr Atheroscler Rep* 24: 427–434
110. Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE (2019) Polygenic Hypercholesterolemia and Cardiovascular Disease Risk. *Curr Cardiol Rep* 21(6): 43
111. Kjolby M, Nielsen MS, Petersen CM (2015) Sortilin, Encoded by the Cardiovascular Risk Gene SORT1, and Its Suggested Functions in Cardiovascular Disease. *Curr Atheroscler Rep* 17(4): 496
112. Carlo AS, Gustafsen C, Mastrobuoni G, et al (2013) The pro-neurotrophin receptor sortilin is a major neuronal apolipoprotein E receptor for catabolism of amyloid- $\beta$  peptide in the Brain. *J Neurosci* 33: 358–370
113. Conlon DM, Schneider C v., Ko YA, et al (2022) Sortilin restricts secretion of apolipoprotein B-100 by hepatocytes under stressed but not basal conditions. *J Clin Invest* 132(6): e144334
114. Mitok KA, Keller MP, Attie AD (2022) Sorting through the extensive and confusing roles of sortilin in metabolic disease. *J Lipid Res* 63(8): 100243
115. Linsel-Nitschke P, Heeren J, Aherrahrou Z, et al (2010) Genetic variation at chromosome 1p13.3 affects sortilin mRNA expression, cellular LDL-uptake and serum LDL levels which translates to the risk of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 208: 183–189
116. Musunuru K, Strong A, Frank-Kamenetsky M, et al (2010) From non-coding variant to phenotype via SORT1 at the 1p13 cholesterol locus. *Nature* 466: 714–719
117. Kjolby M, Andersen OM, Breiderhoff T, et al (2010) Sort1, encoded by the cardiovascular risk locus 1p13.3, is a regulator of hepatic lipoprotein export. *Cell Metab* 12: 213–223
118. Conlon DM, Schneider C v., Ko YA, et al (2022) Sortilin restricts secretion of apolipoprotein B-100 by hepatocytes under stressed but not basal conditions. *J Clin Invest* 132(6): e144334
119. Hagita S, Rogers MA, Pham T, et al (2018) Transcriptional control of intestinal cholesterol absorption, adipose energy expenditure and lipid handling by Sortilin. *Sci Rep* 8(1): 9006
120. Li J, Wang Y, Matye DJ, et al (2017) Sortilin 1 modulates hepatic cholesterol lipotoxicity in mice via functional interaction with liver carboxylesterase 1. *J Biol Chem* 292: 146–160
121. Gyamfi J, Kim J, Choi J (2022) Cancer as a Metabolic Disorder. *Int J Mol Sci* 23(3): 1155



122. Talukdar S, Emdad L, Das SK, Fisher PB (2020) EGFR: An essential receptor tyrosine kinase-regulator of cancer stem cells. W: Kuman R, Foisher PB (red) *Advances in Cancer Research*. Academic Press, str. 161-188
123. Al-Akhrass H, Conway JRW, Poulsen ASA, et al (2021) A feed-forward loop between SorLA and HER3 determines heregulin response and neratinib resistance. *Oncogene* 40: 1300-1317
124. Al-Akhrass H, Pietilä M, Lilja J, et al (2022) Sortilin-related receptor is a druggable therapeutic target in breast cancer. *Mol Oncol* 16: 116-129
125. Demeule M, Charfi C, Currie JC, et al (2021) TH1902, a new docetaxel-peptide conjugate for the treatment of sortilin-positive triple-negative breast cancer. *Cancer Sci* 112: 4317-4334
126. Tanimoto R, Morcavallo A, Terracciano M, et al (2015) Sortilin regulates progranulin action in castration-Resistant prostate cancer cells. *Endocrinology* 156: 58-70
127. Yang W, Wu P fei, Ma J xing, et al (2019) Sortilin promotes glioblastoma invasion and mesenchymal transition through GSK-3 $\beta$ / $\beta$ -catenin/ twist pathway. *Cell Death Dis* 10(3): 208
128. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ (2014) Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 1843: 2563-2582
129. Herda S, Raczkowski F, Mittrücker HW, et al (2012) The sorting receptor sortilin exhibits a dual function in exocytic trafficking of Interferon- $\gamma$  and Granzyme A in T Cells. *Immunity* 37: 854-866
130. Yabe-Wada T, Matsuba S, Takeda K, et al (2016) TLR signals post-transcriptionally regulate the cytokine trafficking mediator sortilin. *Sci Rep* 6: 26566
131. Mortensen MB, Kjolby M, Gunnarsen S, et al (2014) Targeting sortilin in immune cells reduces proinflammatory cytokines and atherosclerosis. *J Clin Invest* 124: 5317-5322
132. Larsen JV, Petersen CM (2017) SorLA in Interleukin-6 signaling and turnover. *Mol Cell Biol* 37(11): e00641-16
133. Du L, Zhang Y, Chen Y, et al (2017) Role of microglia in neurological disorders and their potentials as a therapeutic target. *Mol Neurobiol* 54: 7567-7584
134. Verkhatsky A, Matteoli M, Parpura V, et al (2016) Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion. *EMBO J* 35: 239-257
135. Talbot H, Saada S, Naves T, et al (2019) Regulatory roles of sortilin and Sorla in immune-related processes. *Front Pharmacol* 9: 1507
136. Petersen CM, Nielsen MS, Jacobsen C, et al (1999) Propeptide cleavage conditions sortilin/neurotensin receptor-3 for ligand binding. *EMBO J* 18:595-604
137. St-Gelais F, Jomphe C, Trudeau LE (2006) The role of neurotensin in central nervous system pathophysiology: What is the evidence? *J Psychiatry Neurosci* 31(4): 229-245
138. Gustafsen C, Glerup S, Pallesen LT, et al (2013) Sortilin and SorLA display distinct roles in processing and trafficking of amyloid precursor protein. *J Neurosci* 33: 64-71
139. Lane RF, Raines SM, Steele JW, et al (2010) Diabetes-associated SorCS1 regulates Alzheimer's amyloid- $\beta$  metabolism: Evidence for involvement of SorL1 and the retromer complex. *J Neurosci* 30: 13110-13115
140. Al-Akhrass H, Naves T, Vincent F, et al (2017) Sortilin limits EGFR signaling by promoting its internalization in lung cancer. *Nat Commun* 8(1): 1182

# Everything on the right place – the role of VPS10P receptors in intracellular protein sorting

Paulina Kamińska<sup>1,2</sup>✉, Sylwia Piątek<sup>1</sup>, Magdalena Bieniek<sup>2</sup>, Anna R. Malik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cellular Neurobiology Research Group, University of Warsaw

<sup>2</sup>Laboratory of Molecular Neurobiology, Nencki Institute of Experimental Biology, Warsaw

✉corresponding author: p.kaminska@nencki.edu.pl

**Keywords:** cellular transport, VPS10P receptors, neurodegeneration, metabolic diseases, neurotrophins

## ABSTRACT

VPS10P (*vacuolar protein sorting 10 protein*) domain receptors constitute a family of sorting receptors which are responsible for directing their protein cargo into destined subcellular localization. Functions of VPS10P domain receptors have been well-described in neurons, where efficient sorting of proteins is crucial for cell viability. Dysfunctions in neuronal actions of VPS10P domain receptors are linked to disturbances in neuronal plasticity and development of neurodegenerative disorders. VPS10P domain receptors are also crucial for lipid metabolism, mainly through transport of lipolytic enzymes or influencing the uptake of lipoproteins by the cells. Emerging evidence suggests that VPS10P domain receptors can play important roles in immune response evoked by immune or glial cells. They are also key players in pathogenesis of cancers.

