

环化二磷酸腺苷核糖及其钙动员的功能

章晓辉 朱培阁

(中国科学院上海生理研究所, 上海 200031)

摘要 环化二磷酸腺苷核糖 (cyclic ADP-ribose, cADPR) 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD^+) 的代谢产物, 是新近发现的一种细胞内第二信使. 在许多哺乳类和无脊椎动物细胞中, cADPR 能引起胞内钙库释放钙离子, 其可能机制是: cADPR 受体结合 cADPR, 通过 Ryanodine 受体或类 Ryanodine 受体介导的钙通道使 cADPR 敏感的钙库释放钙离子. 此外, 一条由一氧化氮 (NO)、环化鸟苷酸 (cGMP) 和 cADPR 组成的细胞内信号转导途径可能存在于许多细胞中.

关键词 环化二磷酸腺苷核糖, 钙动员, 信号转导

细胞内游离钙离子浓度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 的变化是 Ca^{2+} 跨膜转运和细胞内钙库摄取、释放钙离子等过程动态平衡改变的结果. 尤其对胞内钙库——主要是内质网系/肌浆网系 (ER/SR)——钙离子释放机制的研究成为热点. 三磷酸肌醇 (IP_3) 受体和 Ryanodine (Rya) 受体广泛存在于各类细胞的 ER/SR 膜上^[1]. 近 10 年的研究, 确立了 IP_3 受体调控的基本机制: 即胞外信息通过 G 蛋白介导激活磷脂酶 C, 水解磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸生成第二信使 IP_3 , IP_3 扩散到 ER/SR 膜上并与 IP_3 受体结合, 最终引起 IP_3 敏感的钙库释放钙离子^[2]. 但是对 Rya 受体的调控方式则不清楚, 是否也存在一内源性物质对其起着调控作用? 近几年的研究表明, 环化二磷酸腺苷核糖 (cADPR)——一种新近被发现的细胞内信使, 可能对 Rya 受体起着调控作用^[3]. 本文根据现有的文献资料, 简要介绍该领域的背景和研究进展.

1 cADPR 的发现及分子结构的确定

早在 1980 年, Epel 发现在海胆卵受精后 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的同时伴随着大量 NAD^+ 的代谢, 提出两者之间可能存在着某种联系. 1987 年, Clapper 等将 IP_3 和 NAD^+ 各自加入海胆卵匀浆中, 发现与 IP_3 引起的瞬间钙释放不

同, NAD^+ 动员钙库释放钙则存在 1~4 min 的延迟. 当 NAD^+ 先与卵上清液提取物 ($M_r > 100\ 000$) 共同孵育后, 再作用于海胆卵中, 则延迟现象消失. 因此认为, NAD^+ 本身不能引起钙库释放钙, 其经酶促反应生成的代谢产物 ($\text{E}-\text{NAD}^+$) 具动员胞内钙运动的功能^[3,4].

Lee (1989 年和 1993 年) 利用放射性同位素标记、紫外光光谱、核磁共振和 X 射线晶体

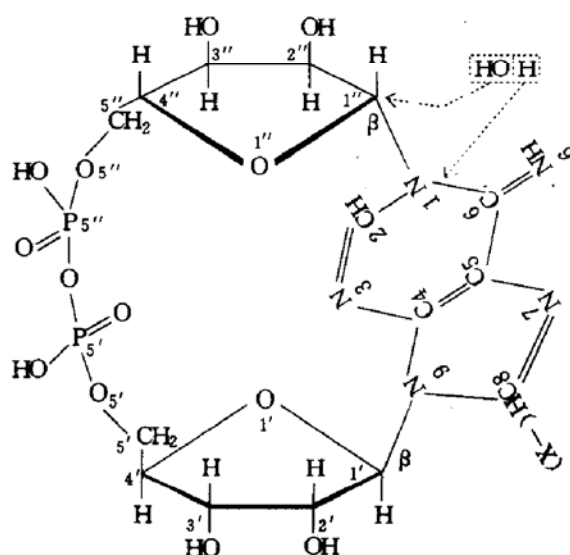


图 1 cADPR 的分子结构

C8 上的 “—H” 可被 “—X” 基团取代而生成具拮抗功能的 cADPR 的衍生物: $\text{X} = -\text{NH}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{Br}$; 点线箭头表示 cADPR 被水解时水分子的掺入位点.

衍射等分析技术对 E—NAD⁺ 的分子结构进行研究后提出(图 1): E—NAD⁺ 为 cADPR, 是一环状化合物, 环化位点是腺嘌呤的 N1 与第二个核糖分子的 C1' 的连接; 腺嘌呤的 N1 和 N9 与核糖连接皆为异头物的 β 构象; 腺嘌呤的 C8 的结构对其功能的保持起着重要的作用, 其上的 “—H” 被其他基团 (“—X”, 图 1) 取代后生成 cADPR 的拮抗剂。

2 cADPR 的胞内代谢途径

许多类细胞内广泛存在着 cADPR 的生成和降解酶系, 从而实现对胞内 cADPR 浓度的

调节(图 2): a. cADPR 的生成. 一分子 NAD⁺ 在 ADP-核糖环化酶的催化下, 脱去一分子烟酰胺并环化生成一分子 cADPR. ADP-核糖环化酶的活力受 cGMP 的调控, 可能通过 cGMP 依赖的蛋白激酶的磷酸化作用^[5]. b. cADPR 的降解. 在 cADPR 水解酶的作用下, cADPR 解环并掺入一分子水而转化成二磷酸腺苷核糖 (ADP-ribose). c. 淋巴细胞的表面抗原 CD38, 被发现具催化 cADPR 生成和降解反应的双重酶功能, 提示 cADPR 还具胞间信息传递的功能^[3].

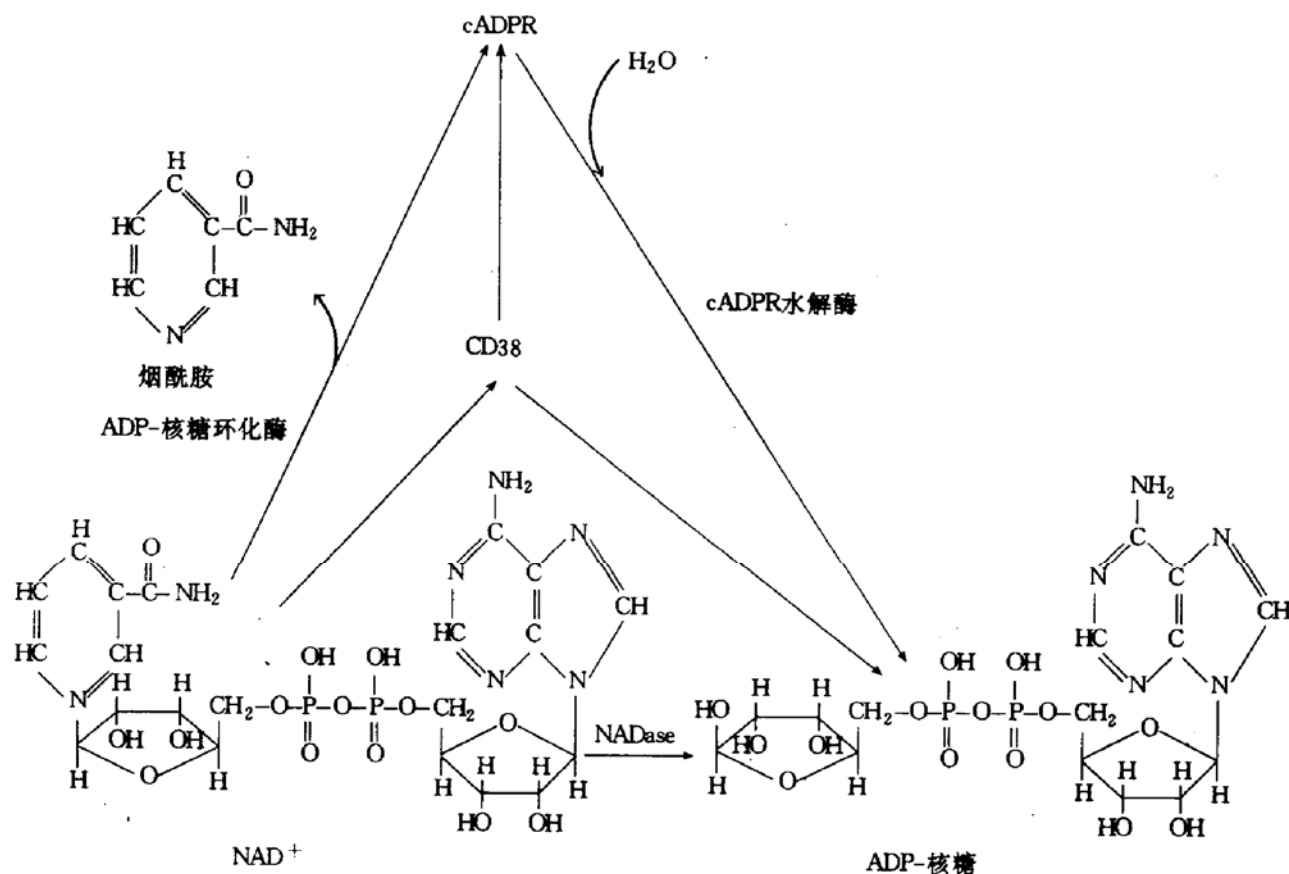


图 2 细胞内存在的 cADPR 的酶促代谢途径

淋巴细胞表面抗原 CD38 具催化 cADPR 生成和水解反应的双重酶功能。

3 cADPR 释放钙的可能机制

cADPR 动员胞内钙库释放 Ca^{2+} 引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的现象最初是在海胆卵中发现。此后, 在一些哺乳类细胞观察到 cADPR 动员胞内钙离子运动的现象。下面分别从介绍

cADPR 与 IP_3 门控的钙释放机制和 Rya 门控的钙释放机制的关系, 阐述 cADPR 引起的钙释放的可能机制。

3.1 cADPR 与 IP_3 受体介导的钙释放

Lee 等在对海胆卵的 cADPR 引起的钙释放的研究中发现, cADPR 引起的钙释放并不

被肝素所抑制, 而肝素则能十分有效地抑制 IP_3 引起的钙释放; 并且在高浓度 IP_3 脱敏作用后的标本中, cADPR 仍能引起钙库释放钙. 反之亦然^[3,6]. 因此, cADPR 引起的钙释放区别于 IP_3 门控的钙释放机制. ^{32}P -cADPR 结合到卵微粒体上的能力不受高浓度的 IP_3 和肝素的影响, 却依赖于胞浆的 pH 值和 $[Ca^{2+}]_i$, 进一步证实了 cADPR 释放钙与 IP_3 受体无关. 同时, ^{32}P -cADPR 不与线粒体结合, 只与海胆卵中的一些储钙微粒体特异地结合. 因此, 海胆卵中存在 cADPR 敏感的“非线粒体”型钙库.

3.2 cADPR 与 Rya 受体介导的钙释放

Rya 受体介导的钙释放的一个重要特点是钙离子能够通过一种称为钙引起钙释放的机制 (CICR) 进一步释放钙. 在海胆卵微粒体中, cADPR 引起的钙释放是通过 CICR 机制完成的. 微粒体经高浓度 cADPR 的脱敏作用后或存在 CICR 阻断剂时, 对紧接着加入的 cADPR 或 CICR 的激动剂 (咖啡因或 Rya) 都没有反应; 反之亦然^[6]. 因此, cADPR、咖啡因和 Rya 可能激活相同钙释放机制. 1993 年, Lee 发现, 低于引起钙释放阈浓度的 cADPR 存在, 极大地易化了二价阳离子 (Ca^{2+} 或 Sr^{2+}) 引起的 Ca^{2+} 的释放, 即只需原来二价阳离子阈浓度的 1/20 ~ 1/10 即可激活 CICR 而使卵微粒体释放钙, 两者之间能相互易化 (cross potentiation) 释放钙^[3,7]. 所以, 在阈浓度上时 cADPR 能动员 cADPR 敏感的钙库释放钙; 在低于阈浓度时则可作为一个 CICR 的内源性调节因子, 增强 CICR 对激动剂 (二价阳离子, 咖啡因) 的敏感性.

至今为止, 已分离纯化和克隆到三种 Ryanodine 受体, I 型、II 型和 III 型. 1993 年, Meszaros 等的研究认为, cADPR 只能直接激活 II 型 Rya 受体, 对 I 型没有作用. 但 1994 年, Furen 等重复 Meszaros 的实验却得到 cADPR 对 I 型和 II 型 Rya 受体/钙通道皆没有作用的结果, 并提出 cADPR 可能作用于另一新型的 Rya 受体. 此外, 利用 I 型 Rya

受体的抗体进行免疫印迹分析, 只在海胆卵的表层部位检测到一与抗体部分反应的 380 ku 蛋白, 被认为是类 Rya 受体蛋白^[8]. 因此, 目前对 cADPR 作用于何种 Rya 受体亚型尚未清楚.

3.3 cADPR 受体和辅助蛋白

人工合成的 cADPR 的衍生物能竞争性抑制 cADPR 结合 cADPR 受体, 故 8-叠氮基-5 [^{32}P] -cADPR, 则可作为一放射性标记的光活探针探测 cADPR 受体蛋白, 在海胆卵中探测到两个与 cADPR 特异性结合的蛋白, 分子量分别是 140 ku 和 100 ku^[3]. 这两种 cADPR 结合蛋白要比 380 ku 的类 Rya 受体蛋白小, 提示 cADPR 可能不是直接作用于 Rya 受体, 而是通过中介蛋白最终引起钙释放. 并且, cADPR 的拮抗剂能有效抑制 cADPR 引起的钙释放, 却不能抑制咖啡因或 Rya 引起的钙释放, 这实验结果支持存在中介辅助蛋白的可能. 新近研究表明钙调素是 cADPR 敏感的钙释放系统的一种辅助蛋白^[9].

4 小 结

自 1987 年发现 cADPR 以来, 许多学者已对 cADPR 的生理功能和作用机制进行了大量的研究并取得很大的进展. cADPR 不仅是一个细胞内第二信使, 而且又是细胞内 CICR 的内源激动剂. 细胞内存在与 IP_3 敏感的钙释放系统相并列的 cADPR 敏感的钙释放系统, 图 3 简单地图示目前所知的 cADPR 敏感的钙释放系统的可能组成和机制.

cADPR 敏感的钙释放系统的起动是依赖 cGMP 激活 ADP-核糖环化酶; 激活细胞膜表面受体或扩散性的神经递质一氧化氮 (NO) 能分别激活鸟苷酸环化酶的两种亚型, 而后升高胞内 cGMP 水平. 因此, 1994 年, Lee 等提出在细胞内可能存在如下一条信号转导途径: $NO \longrightarrow cGMP \uparrow \longrightarrow cADPR \uparrow \longrightarrow [Ca^{2+}]_i \uparrow \longrightarrow$ 生物效应^[5]. 它能较好地解释在一些类型的细胞中 NO 或 cGMP 引起胞内钙释放的实验, 但此信号转导途径在细胞内的确

立仍需作很多的研究.

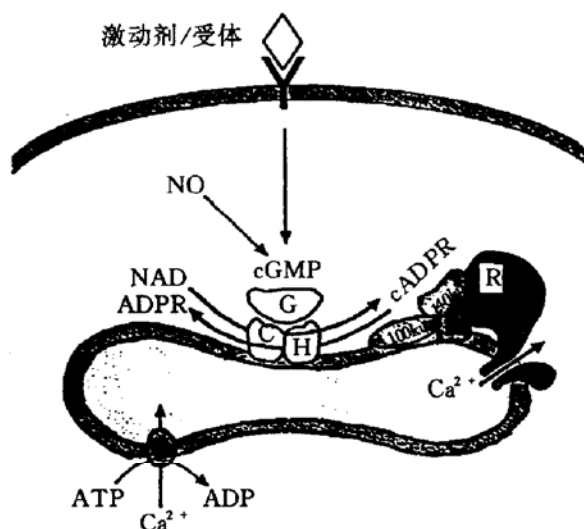


图3 cADPR 敏感的胞内钙释放系统的可能模型和细胞内可能存在的新信号途径^[3]

NAD: 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸; ADPR: 二磷酸腺苷核糖; NO: 一氧化氮; cADPR: 环化二磷酸腺苷核糖; cGMP: 环化鸟苷酸; G: 环化鸟苷酸依赖的蛋白激酶; C: 二磷酸腺苷核糖环化酶; H: 环化二磷酸腺苷核糖水解酶; R: Ryanodine 受体或类 Ryanodine 受体/钙离子通道。

参考文献

- 1 Henzi V, MacDermott A B. Neuroscience, 1992; **46**: 251
- 2 Berridge M J. Nature, 1993; **361**: 315
- 3 Lee H C, Galione A, Walseth T F. In: Litwack G ed. Vitamins and hormones, Orlando, Florida: Academic Press, 1994; **48**: 199
- 4 Clapper D L, Walseth T F, Dargie P J *et al.* J Biol Chem, 1987; **262**: 9561
- 5 Lee H C. News Physiol Sci. 1994; **9**: 134

- 6 Galione A, Lee H C, Busa W B. *Science*, 1991; **253**: 1143
7 Lee H C. *J Biol Chem*, 1993; **268**: 293
8 McPerson S M, McPerson P S, Mathews L *et al.* *J Cell Biol*, 1992; **116**: 1111
9 Lee H C, Aarhus R, Graeff R *et al.* *Nature*, 1994; **370**: 307

Cyclic ADP-Ribose and Its Calcium Mobilizing Function. Zhang Xiaohui, Zhu Peihong (Shanghai Institute of Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China).

Abstract Cyclic ADP-ribose (cADPR) is a novel endogenous metabolite of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+), and is a recently discovered second messenger. cADPR is active in mobilizing intracellular Ca^{2+} in invertebrate as well as mammalian cells. The mechanism of releasing Ca^{2+} from internal pool(s) has been studied. cADPR may bind its receptor, which in turn induces the release of Ca^{2+} from cADPR-sensitive Ca^{2+} pool(s) through ryanodine receptor or ryanodine receptor-like mediated Ca^{2+} channel. In addition, a possible intracellular signal transduction pathway involving nitric oxide (NO), cyclic guanylic acid (cGMP) and cADPR has been suggested to exist in various cells.

Key words cADPR, Ca^{2+} mobilization, signal transduction

转基因的分子生物学特性

戴旭明 潘星华 傅继梁¹⁾

(第二军医大学生物学教研室, 上海 200433)

摘要 现代分子生物学研究中,转基因概念的出现越来越频繁,它渐渐被用来表示所有的用基因工程手段构建、导入高等真核生物细胞,并稳定地整合入受体基因组的外源DNA,文章较系统地总结了

¹⁾通讯联系人。 收稿日期: 1995-05-05, 修回日期: 1995-07-17