

核糖核酸酶 4：一种高保守性多功能的核酸酶 *

盛静浩^{1, 2)} 许正平^{1, 2)**}

⁽¹⁾ 浙江大学医学院环境医学研究所, 杭州 310058; ⁽²⁾ 浙江大学医学院分子医学研究中心, 杭州 310058

摘要 核糖核酸酶 4(ribonuclease-4, RNase-4)是核糖核酸酶 A 超家族成员之一。物种间 RNase-4 蛋白序列的相似度高达 90%，是该超家族中最为保守的成员。RNase-4 的核糖核酸酶活性具有独特的尿嘧啶核苷酸底物偏好性，这与其结构紧密相关。RNase-4 可以通过降解外源病原体释放的 RNA 多聚体而发挥宿主防御功能。最新的研究表明，RNase-4 可以促进血管新生、诱导神经发育，并在应激条件下保护神经细胞存活，进而延缓神经退行性疾病的发生。本文综述了 RNase-4 蛋白的分子结构特征、酶活性与结构的相关性及其生物学功能的研究进展，并展望了 RNase-4 未来的研究方向和临床应用前景。

关键词 核糖核酸酶 4，酶活性，血管新生，神经退行性疾病

学科分类号 Q71

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00134

核糖核酸酶 4 是 1985 年在分离纯化促肿瘤血管新生因子血管生成素(angiogenin, ANG/RNase-5)的同时被发现的^[1-2]。虽然两者都是核糖核酸酶 A 超家族成员，但是在鸡胚绒毛尿囊膜血管生成模型中，只有 ANG 显示促血管新生的活性。因此，过去 30 年的研究主要集中在 ANG 上。目前，对 ANG 促肿瘤血管新生的分子机制已经有较为全面的理解^[3]。相比之下，RNase-4 的研究工作则集中在分析其特有的尿嘧啶核苷酸底物偏好性上。1999 年，Terzyan 等^[4]解析了 RNase-4 蛋白的三维结构，并从结构生物学角度阐释了 RNase-4 特有酶活性的结构基础。

人类 RNase-4 和 ANG 的基因都有一个外显子编码，并且两者共用一个启动子和绝大部分的 5'非翻译区(5'-untranslated region, 5'UTR)^[5-6](图 1)。这种特殊的基因排列结构使得其具有独特的基因调控模式，且两者的基因表达谱基本一致。研究表明，与家族中其他成员一样，RNase-4 和 ANG 也具有宿主防御功能^[7-9]。最近，Li 等^[10]发现，RNase-4 和 ANG 在功能上具有相似性，也可以促进血管新生、诱导神经发育，并在应激条件下保护神经元存活而延缓神经退行性疾病的发生和发展。RNase-4 的新

生物学功能提示它也可能作为抑制肿瘤血管新生以及治疗神经退行性疾病的靶点。本文将对 RNase-4 的分子结构特征、酶活性特性与结构的相关性、生物学功能以及临床应用前景做一个全面的阐述。

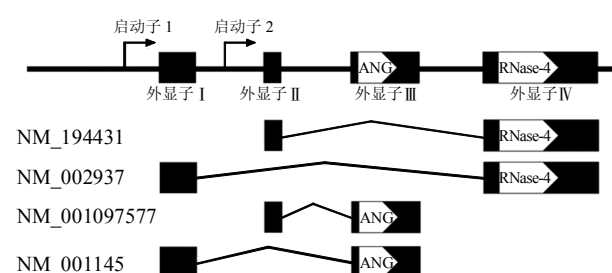


Fig. 1 Schema of RNase-4 and ANG gene transcription

图 1 人 RNase-4 和 ANG 基因转录示意图

NM_194431、NM_002937、NM_001097577、NM_001145 表示各转录本在 NCBI GenBank 数据库中的编号，黑框表示基因外显子，白色箭头框表示 ANG 或者 RNase-4 基因的编码序列。

* 国家自然科学基金资助项目(31170721)。

** 通讯联系人。

Tel: 0571-88208008, E-mail: zpxu@zju.edu.cn

收稿日期: 2013-04-01, 接受日期: 2013-07-16

1 RNase-4 的分子结构特征

成熟的 RNase-4 蛋白是一个由 119 个氨基酸残基组成的分泌型单链碱性蛋白, 相对分子质量约为 13 800 道尔顿, 等电点(pI)为 10.3. 该蛋白 N 端的第-28 位至第-1 位氨基酸残基为一经典的信号肽序列. RNase-4 蛋白保留了这个家族特有的 3 个酶催化位点, 即第 12 位组氨酸、第 41 位赖氨酸和第 119 位组氨酸, 以及其他几个保守位点, 包括第

120 位苯丙氨酸、第 45 位苏氨酸、第 44 位天冬氨酸和第 66 位赖氨酸(以上数字均为牛胰核糖核酸酶-A 的残基位置, 图 2). RNase-4 蛋白具有家族特征性的保守序列 CKXXNTF(XX 为任意氨基酸)和由 8 个半胱氨酸残基形成的分子内二硫键(Cys25 ~ Cys81, Cys39 ~ Cys92, Cys57 ~ Cys107 和 Cys64 ~ Cys71)^[11]. 目前, 尚未发现 RNase-4 蛋白具有任何 N-糖链或者磷酸化位点.

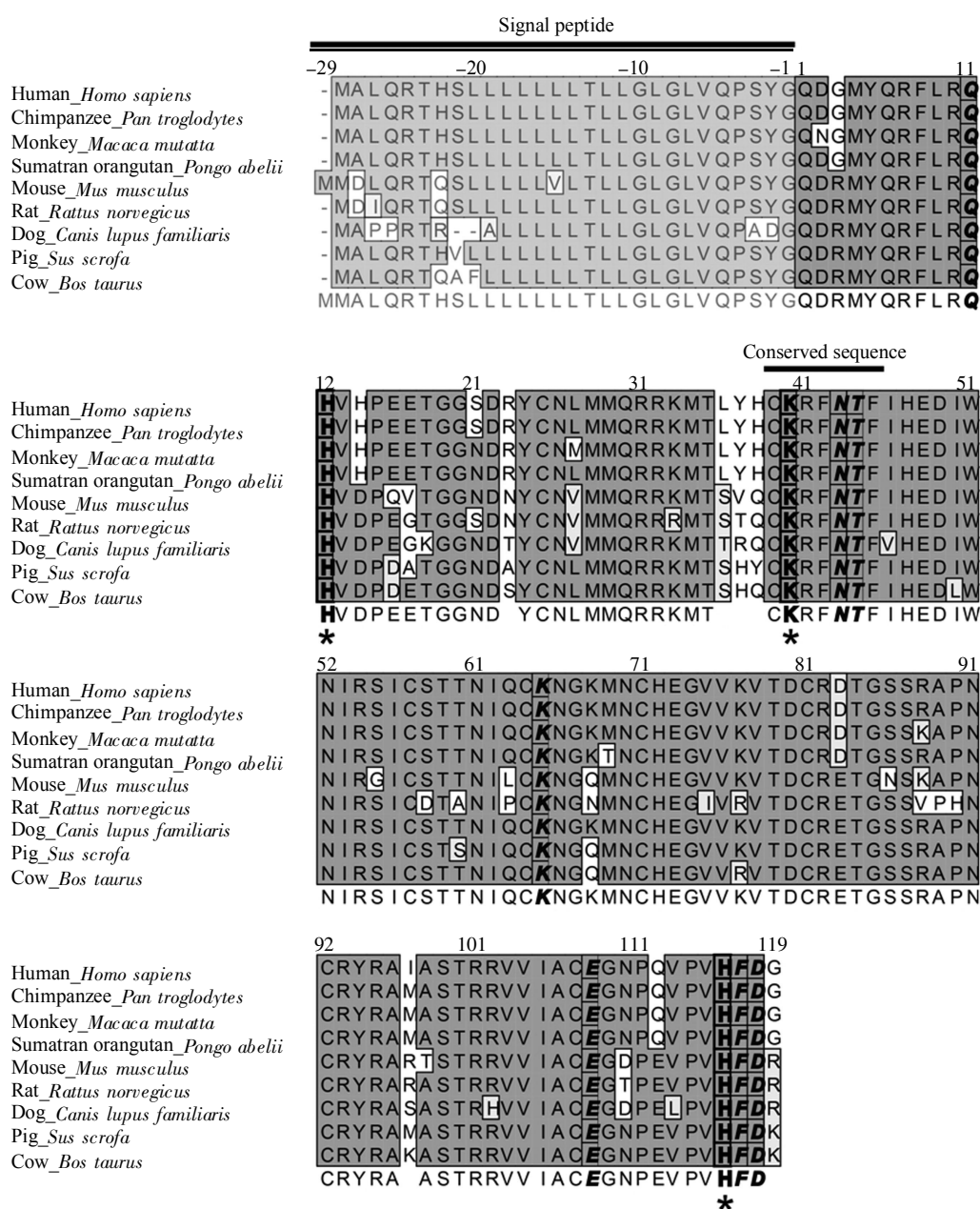


Fig. 2 Comparison of the primary structures of RNase-4 in different species

图 2 RNase-4 在不同物种间一级序列比对图

酶催化位点用粗体以及星号表示; 与底物结合相关位点用粗斜体表示; 保守序列“CKXXNTF”。

在目前已完成测序的哺乳动物(如人类、小鼠、大鼠、猪、牛、猩猩和猴)中, RNase-4 只有一个基因拷贝, 且由一个外显子编码. 1995 年 Seno 等克隆和表达了人 RNase-4 基因; 同年, Rosenberg 等将人类 RNase-4 基因定位于人染色体 14q11.2 上, 与人类 ANG 基因共用一个启动子和绝大部分的 5'-UTR, 构成人类基因组中特殊的基因排列结构^[5, 12-13](图 1). 进一步的研究发现, RNase-4 和 ANG 基因转录受两个启动子调控, 分别为广谱表达的远端启动子(图 1, 启动子 1)和肝脏特异性的近端启动子(图 1, 启动子 2)^[9]. 我们的研究表明, 这种特殊的基因排列结构中存在着环状的染色体结构, 并且这种环状结构在 RNase-4 和 ANG 基因的表达中发挥重要的调控作用(未发表结果).

RNase-4 是整个核糖核酸酶 A 超家族中进化最

为保守的成员. 图 2 对比了人类、黑猩猩、猴、苏门答腊猩猩、小鼠、大鼠、狗、猪和牛中 RNase-4 蛋白的一级序列, 可以发现成熟的 RNase-4 蛋白一共有 35 个位置的氨基酸残基不一致, 但是其中的 29 个位置是氨基酸残基的保守置换. 表 1 比对了 RNase-4 一级序列在不同物种中的保守性和相似性, 其蛋白一级序列在不同物种间的相似度高达 90%, 远高于家族其他成员在物种间的相似度. 同时, 我们比对了 RNase-4 与 ANG 和 RNase A 序列之间的相似性和一致度(表 2). RNase-4 在一级序列上与 ANG 和 RNase A 的相似度在 52.6% 和 66.4%. 因此, RNase-4 在物种进化过程中既保留了家族特有的酶催化活性, 又具有高度的物种间蛋白序列保守性, 提示其可能发挥重要的基本生物学功能.

Table 1 Comparison sequence identity and similarity of RNase-4 in different species

表 1 RNase-4 在不同物种之间序列的一致度和相似度

		一致度 /%								
		人类(human)	黑猩猩 (chimpanzee)	猴(monkey)	苏门答腊猩猩 (orangutan)	小鼠(mouse)	大鼠(rat)	狗(dog)	猪(pig)	牛(cow)
相似度 /%	人类(human)	100	99.3	96.6	98.0	83.1	82.3	82.3	89.1	87.8
	黑猩猩(chimpanzee)	100	100	97.3	98.6	83.1	82.3	82.3	89.8	87.8
	猴(monkey)	98.6	98.6	100	97.3	83.8	81.0	81.6	88.4	86.4
	苏门答腊猩猩 (orangutan)	98.6	98.6	98.6	100	83.1	81.0	82.3	89.8	87.8
	小鼠(mouse)	89.9	89.9	89.9	89.9	100	85.8	81.8	86.5	86.5
	大鼠(rat)	89.8	89.8	88.4	88.4	91.9	100	80.3	83.7	84.4
	狗(dog)	88.4	88.4	88.4	88.4	89.9	87.8	100	83.7	83.7
	猪(pig)	93.2	93.2	93.2	93.2	91.2	91.2	92.5	100	93.2
	牛(cow)	93.9	93.9	93.9	93.9	92.5	92.6	93.2	96.6	100

RNase-4 蛋白序列来自于 NCBI GenBank 数据库, 通过 ClustW 程序比较蛋白一级序列得到物种间序列的相似度(深灰色)和一致度(浅灰色).

Table 2 Percentage sequence identity and similarity between RNase-4 and ANG or RNase A

表 2 RNase-4 与 ANG 和 RNase-4 的一致度和相似度

		一致度 /%		
		Angiogenin	RNase-4	RNase A
相似度 /%	Angiogenin	100	38.3	29.5
	RNase-4	52.6	100	44.7
	RNase A	52.6	66.4	100

Angiogenin, RNase-4 和 RNase A 蛋白序列来自 NCBI GenBank 数据库, 通过 ClustW 程序比较蛋白一级序列得到物种间序列的相似度(深灰色)和一致度(浅灰色).

2 RNase-4 酶活性

RNase-4 作为核糖核酸酶 A 超家族的成员之一, 具有 RNA 内切酶活性, 其酶活力与 RNase-1 酶活力相当. 与家族的其他成员一致, RNase-4 通过专一水解 RNA 链上嘧啶核苷酸 3'端的 5'- 磷酸键产生 3'- 嘧啶核苷酸或寡核苷酸片段. RNase-4 也具有其自身的酶活性特征, 即具有高度的尿嘧啶核苷酸底物偏好性^[2]. RNase-4 水解多聚尿嘧啶核

苷酸链(poly(U))的活性比水解多聚胞嘧啶核苷酸链(poly(C))的活性高 1000 多倍^[2]. 1994 年, Vicentini 等^[14]发现 RNase-4 氨基酸残基第 36~42 位区域与其尿嘧啶核苷酸底物偏好性密切相关. 更多的实验证据表明, RNase-4 的尿嘧啶核苷酸底物偏好性依赖于其特殊的蛋白三维结构. 1999 年, Terzyan 等^[4]从 RNase-4 与尿嘧啶核苷酸结合的晶体结构上剖析了这种底物偏好性的结构基础.

RNase-4 是核糖核酸酶 A 超家族中肽链最短的成员, 成熟的 RNase-4 蛋白只有 119 个氨基酸残基; 相对于 RNase A 的 123 个氨基酸, RNase-4 缺失第 76 位酪氨酸和第 77 位丝氨酸以及 C 端的第 123 位丝氨酸(数字为对应于牛胰核糖核酸酶 A 的残基位置), 而第 123 位丝氨酸被认为是核糖核酸酶 A 超家族酶活性所必须的氨基酸残基位点. RNase-4 虽然仍保留了核糖核酸酶 A 超家族其他重要的酶催化活性位点, 但牛胰核糖核酸酶 A 的核苷酸催化结合袋(B1 区域)中的一些氨基酸残基被相应替换: RNase A 上第 43 位缬氨酸、第 42 位脯氨酸和第 104 位赖氨酸分别被 RNase-4 上第 42 位苯丙氨酸、第 41 位和第 101 位精氨酸替换. 这些氨基酸残基的缺失与替换是 RNase-4 的尿嘧啶核苷酸底物偏好性的基础^[15].

牛胰核糖核酸酶 A 水解核苷酸底物主要通过其嘧啶核苷酸结合袋(B1 区域)发挥作用, 该结构主要有第 12 位组氨酸、第 43 位缬氨酸、第 44 位天冬氨酸、第 45 位苏氨酸、第 120 位苯丙氨酸以及第 123 位丝氨酸组成. 当核糖核酸酶水解嘧啶核苷酸底物时, 第 45 位苏氨酸的 NH₂ 端通过氢键与嘧啶核苷酸 C₂ 上的氧结合, 同时苏氨酸上的 γOH 通过氢键与尿嘧啶核苷酸上的 NH₃ 或者胞嘧啶核苷酸上的 N₃ 结合. 第 123 位丝氨酸的 γOH 与尿嘧啶核苷酸的结合相关, 可以通过氢键或者范德华力与尿嘧啶核苷酸 C₄ 上的氧结合, 但该位点丝氨酸在胞嘧啶核苷酸的结合中并非起主要作用; 而核糖核酸酶上的第 83 位天冬氨酸可以作为辅助残基起作用, 虽然该位点天冬氨酸不能直接与嘧啶核苷酸结合, 但它可以影响尿嘧啶核苷酸从第 45 位苏氨酸 γOH 接受氢键的能力^[15].

Terzyan 等^[4]通过人类 RNase-4 蛋白与尿嘧啶核苷酸结合的晶体结构阐释了其特有的尿嘧啶核苷酸底物偏好性. 在 RNase-4 蛋白 C 端缺少的 2 个氨基酸残基中, 第 123 位丝氨酸对于上述嘧啶核苷酸结合袋 B1 区域的结构有重要影响, 该氨基酸的缺

失使得第 101 位的精氨酸侧链可以深入到嘧啶核苷酸结合袋内部, 并与尿嘧啶核苷酸 C₄ 上的氧形成氢键. RNase-4 上第 42 位苯丙氨酸代替了 RNase A 上第 43 位缬氨酸, 苯丙氨酸巨大的侧链基团迫使第 80 位的天冬氨酸与第 44 位上苏氨酸形成氢键, 使得苏氨酸上的 γOH 没有足够的氢键提供给胞嘧啶核苷酸, 而更容易接受来自尿嘧啶核苷酸上 NH₃ 提供的氢键. RNase-4 这些氨基酸残基的改变使得催化袋 B1 区域发生改变, 进而使得 RNase-4 更加偏向于水解尿嘧啶核苷酸而非胞嘧啶核苷酸.

3 RNase-4 的生物学功能

到目前为止, 对 RNase-4 的生物学功能了解得并不多, 只有少数几篇相关文章. RNase-4 与 ANG 在人类组织中的 mRNA 表达谱较为一致, 且均在肝脏中高表达^[16]. 人 ANG 在血清中的含量大约为 300 μg/L, 主要来自于肝脏^[3, 17]. 虽然 RNase-4 尚缺乏有效可行的检测手段, 但鉴于其与 ANG 具有相似的转录调控和基因表达谱, 我们猜测血清中的 RNase-4 也同样来自于肝脏, 且其含量与 ANG 相当. 当然, 不同物种中 RNase-4 的表达调控可以不一样, 如 Hofsteenge 等证明在牛的基因组中 RNase-4 和 ANG 同源基因也共用相同的启动子, 但是两者具有不同的表达谱^[18] (未发表); Harris 等^[19]在牛奶中分离纯化得到了牛 ANG 蛋白(含量约为 3~19 mg/L)和牛 RNase-4 蛋白(大约 1~4 mg/L). 一般认为, 血清和牛奶中富含的 ANG 和 RNase-4 蛋白与宿主的防御功能有关.

单核细胞主要是在机体发生损伤、外源病原体入侵以及疾病免疫过程中发挥作用^[20]. Egestern 等^[7]发现, RNase-4 可以在早期分化的单核细胞中高表达, 且定位于单核细胞的细胞质颗粒中, 也与宿主防御密切相关^[7]. 单核细胞激活后可以释放出多种细胞因子、干扰素和白介素参与机体的防御^[7]. RNase-4 在单核细胞中高表达并储存在细胞质颗粒中的事实提示, 其可能与其他细胞因子一起被释放到血液中, 进而降解外源病原体中 RNA 多聚体来清除病原体, 发挥宿主防御的功能^[7]. 最近研究表明, RNase-4 是 CD8⁺ T 细胞响应艾滋病病毒(HIV) X4 病毒株感染而释放的两种核糖核酸酶之一(另一种为 ANG), 并且 RNase-4 可以通过降解病毒 RNA 而抑制 X4 病毒株的复制^[21]. 牛 RNase-4 蛋白主要在肝脏、肠道、睾丸和乳腺等组织表达, 也可能与

其宿主防御功能有关. 研究发现, 牛 ANG 可以抑制白色念珠菌生长, 但是牛 RNase-4 并无此抑制效果^[9]. 因此, RNase-4 在宿主防御中可能主要针对 RNA 病毒, 但仍需大量的实验证据的支持.

除了宿主防御功能外, RNase-4 在各种生理和病理状态下如何发挥作用仍是未知. 体外实验证明, 牛 RNase-4 蛋白在正常的生理浓度下可以诱导人脐静脉内皮细胞的增殖和管腔形成^[22], 提示 RNase-4 可能也具有与 ANG 相似的促血管新生的生物学功能. 进一步, Li 等^[10]通过体外管腔形成实验、体内的小鼠主动脉外植体实验以及小鼠体内的 Matrigel plug 实验证明 RNase-4 确实具有促血管新生的活性. 那么, 为什么最初的鸡胚绒毛尿囊膜血管生成模型检测不到 RNase-4 的促血管活性呢? 这可能是由于鸡的基因组中不存在 RNase-4 的同源基因和 RNase-4 相应的受体, 使得外源的人 RNase-4 蛋白没有作用靶点, 因此在该模型中没有检测到 RNase-4 蛋白的促血管新生功能^[23]. 事实上, RNase-4 和 ANG 共用一个启动子, 并且具有很高的同源性(表 2). 因此, RNase-4 也具有促血管生成的功能是可以理解的. 此外, Li 等^[10]还证明了 RNase-4 的促血管新生功能依赖于其核糖核酸酶活性.

目前发现, RNase-4 在神经退行性疾病中也发挥重要的作用. ANG 基因功能丧失性突变与肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)和帕金森疾病(Parkinson's disease, PD)的发生和发展密切相关^[24]. RNase-4 基因与 ANG 基因处于相同的基因座位上, 因此在 ALS 和 PD 患者中可能存在着 RNase-4 基因的突变. 为此, Li 等分析了 ALS 患者与正常志愿者基因组中 RNase-4 编码区域的单核苷酸多态性(SNP), 发现 rs37484338(A/T)位点具有显著性差异. 这个突变点会导致 RNase-4 蛋白信号肽上的第 13 位苏氨酸突变为丝氨酸. 已知颗粒蛋白前体(progranulin, PGRN)的信号肽上第 9 位丙氨酸突变为天冬氨酸会导致 PGRN 蛋白不能分泌至体外, 使得细胞内大量积累 RGRN 蛋白而产生细胞毒性, 这是神经退行性疾病发生的原因之一^[25]. 因此, RNase-4 信号肽的突变也可能导致 RNase-4 蛋白分泌异常, 在细胞质内聚集而对细胞产生毒性, 但需要进一步的体内外实验验证. 另一方面, Li 等^[10]通过实验研究证明, 人 RNase-4 蛋白可以诱导胚胎干细胞分化成为神经细胞, 并在应激条件下保护神经细胞的存活. 在 ALS 动物模型中

(SOD^{G93A} 小鼠), 注射纯化的人类 RNase-4 蛋白可以显著延缓小鼠的体重下降和神经肌肉功能的衰退. 目前已有研究表明, 神经退行性疾病的发生与 RNA 代谢紊乱相关, 而 RNase-4 作为核糖核酸酶在体内 RNA 代谢中可能发挥重要的作用^[26]. 因此, RNase-4 基因突变可能是神经退行性疾病发生的病因之一, 但这个假设还需要扩大人群样本量以及在不同人群中验证 RNase-4 基因多态性和疾病的相关性. 如果能证明 RNase-4 与神经退行性疾病的相关性, 那将为该类疾病的治疗提供一个新的潜在靶点.

4 展 望

核糖核酸酶 A 家族作为研究得最早和最多的一类酶家族, 其在每个物种中的成员具有很大的差异, 不仅酶活性不同, 而且不同成员又各自具有其自身的生物学活性. RNase-4 作为整个家族中序列最为保守和底物最为专一的成员, 其生物学功能尚未被真正阐明. 因此, 可以在各种生理和病理条件下分析 RNase-4 的生物学功能和作用机制. 例如, RNase-4 具有促血管新生的功能, 因此可以深入研究它在肿瘤发生发展过程中的作用. 如能证实 RNase-4 与肿瘤的相关性, 则一方面其血清含量(分泌型蛋白)可能作为肿瘤诊断的新指标, 另一方面它也可能作为抑制肿瘤血管新生的潜在靶点. 同时, 可以进一步研究 RNase-4 与神经退行性疾病的相关性和作为该类疾病治疗药物的可行性. 当然, 将 RNase-4 作为疾病标志物或治疗靶点应用于临床还有待于靶向 RNase-4 的转化医学研究.

此外, RNase-4 和 ANG 共同受一个启动子调控, 并有较为一致的表达谱. 目前已知的 RNase-4 功能又与 ANG 比较相似, 两者在结构上也有高度的相似性, 因此, 这两个蛋白可能在生物学功能上有冗余性. Cho 等^[27]通过对核糖核酸酶 A 家族成员的进化分析, 发现整个核糖核酸酶 A 超家族成员起源于 ANG 相似的始祖基因, 并在哺乳动物中分化出大量的横向同源基因. RNase-4 与 ANG 在生物学功能冗余性的原因将成为进化生物学中有趣的研究方向.

参 考 文 献

- [1] Fett J W, Strydom D J, Lobb R R, *et al.* Isolation and characterization of angiogenin, an angiogenic protein from human carcinoma cells. *Biochemistry*, 1985, **24**(20): 5480-5486
- [2] Shapiro R, Fett J W, Strydom D J, *et al.* Isolation and

- characterization of a human colon carcinoma-secreted enzyme with pancreatic ribonuclease-like activity. *Biochemistry*, 1986, **25**(23): 7255–7264
- [3] Gao X, Xu Z. Mechanisms of action of angiogenin. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2008, **40**(7): 619–624
- [4] Terzyan S S, Peracaula R, de Llorens R, *et al.* The three-dimensional structure of human RNase-4, unliganded and complexed with d(Up), reveals the basis for its uridine selectivity. *J Mol Biol*, 1999, **285**(1): 205–214
- [5] Dyer K D, Rosenberg H F. The mouse RNase 4 and RNase 5/ang 1 locus utilizes dual promoters for tissue-specific expression. *Nucleic Acids Res*, 2005, **33**(3): 1077–1086
- [6] Yang W, Ng P, Zhao M, *et al.* Promoter-sharing by different genes in human genome--CPNE1 and RBM12 gene pair as an example. *BMC Genomics*, 2008, **9**: 456
- [7] Egesten A, Dyer K D, Batten D, *et al.* Ribonucleases and host defense: identification, localization and gene expression in adherent monocytes *in vitro*. *Biochim Biophys Acta*, 1997, **1358**(3): 255–260
- [8] Wheeler T T, Smolenski G A, Harris D P, *et al.* Host-defence-related proteins in cows' milk. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience*, 2012, **6**(3): 415–422
- [9] Hooper L V, Stappenbeck T S, Hong C V, *et al.* Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nat Immunol*, 2003, **4**(3): 269–273
- [10] Li S, Sheng J, Hu J K, *et al.* Ribonuclease 4 protects neuron degeneration by promoting angiogenesis, neurogenesis, and neuronal survival under stress. *Angiogenesis*, 2013, **16**(2): 387–404
- [11] Klink T A, Woycechowsky K J, Taylor K M, *et al.* Contribution of disulfide bonds to the conformational stability and catalytic activity of ribonuclease A. *Eur J Biochem*, 2000, **267**(2): 566–572
- [12] Rosenberg H F, Dyer K D. Human ribonuclease 4 (RNase 4): coding sequence, chromosomal localization and identification of two distinct transcripts in human somatic tissues. *Nucleic Acids Res*, 1995, **23**(21): 4290–4295
- [13] Seno M, Futami J, Tsushima Y, *et al.* Molecular cloning and expression of human ribonuclease 4 cDNA. *Biochim Biophys Acta*, 1995, **1261**(3): 424–426
- [14] Vicentini A M, Hemmings B A, Hofsteenge J. Residues 36–42 of liver RNase PL3 contribute to its uridine-preferring substrate specificity. Cloning of the cDNA and site-directed mutagenesis studies. *Protein Sci*, 1994, **3**(3): 459–466
- [15] Hofsteenge J, Vicentini A, Zelenko O. Ribonuclease 4, an evolutionarily highly conserved member of the superfamily. *Cell Mol Life Sci*, 1998, **54**(8): 804–810
- [16] Futami J, Tsushima Y, Murato Y, *et al.* Tissue-specific expression of pancreatic-type RNases and RNase inhibitor in humans. *DNA Cell Biol*, 1997, **16**(4): 413–419
- [17] Shapiro R, Strydom D J, Olson K A, *et al.* Isolation of angiogenin from normal human plasma. *Biochemistry*, 1987, **26**(16): 5141–5146
- [18] Gupta S K, Haigh B J, Griffin F J, *et al.* The mammalian secreted RNases: Mechanisms of action in host defence. *Innate immunity*, 2013, **19**(1): 86–97
- [19] Harris P, Johannessen K M, Smolenski G, *et al.* Characterisation of the anti-microbial activity of bovine milk ribonuclease4 and ribonuclease5 (angiogenin). *International Dairy Journal*, 2010, **20**(6): 400–407
- [20] Ziegler-Heitbrock L. The CD14⁺ CD16⁺ blood monocytes: their role in infection and inflammation. *J Leukoc Biol*, 2007, **81** (3): 584–592
- [21] Cocchi F, DeVico A L, Lu W, *et al.* Soluble factors from T cells inhibiting X4 strains of HIV are a mixture of beta chemokines and RNases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(14): 5411–5416
- [22] Di Liddo R, Dalzoppo D, Baiguera S, *et al.* *In vitro* biological activity of bovine milk ribonuclease-4. *Mol Med Report*, 2010, **3**(1): 127–132
- [23] Cho S, Beintema J J, Zhang J. The ribonuclease A superfamily of mammals and birds: identifying new members and tracing evolutionary histories. *Genomics*, 2005, **85**(2): 208–220
- [24] van Es M A, Schelhaas H J, van Vught P W, *et al.* Angiogenin variants in Parkinson disease and amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 2011, **70**(6): 964–973
- [25] Shankaran S S, Capell A, Hruscha A T, *et al.* Missense mutations in the progranulin gene linked to frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-immunoreactive inclusions reduce progranulin production and secretion. *J Biol Chem*, 2008, **283**(3): 1744–1753
- [26] Lemmens R, Moore M J, Al-Chalabi A, *et al.* RNA metabolism and the pathogenesis of motor neuron diseases. *Trends in Neurosciences*, 2010, **33**(5): 249–258
- [27] Cho S, Zhang J. Ancient expansion of the ribonuclease A superfamily revealed by genomic analysis of placental and marsupial mammals. *Gene*, 2006, **373**: 116–125

Ribonuclease-4: a Highly Conserved Multifunctional Nuclease*

SHENG Jing-Hao^{1,2)}, XU Zheng-Ping^{1,2)**}

⁽¹⁾ *Institute of Environmental Medicine, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China;*

²⁾ *Research Center for Molecular Medicine, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)*

Abstract The Ribonuclease-4 (RNase-4) is one member of the ribonuclease A superfamily. RNase-4 displays the highest level of inter-species sequence similarity (approximately 90%) among the whole family, and unique uridine-specificity enzymatic properties, which relates to its three-dimensional (3D) structure. The biological functions of RNase-4 have not been well characterized to documents, although it is possibly associated with host defence by degrading polymeric RNA released from specific pathogens. Recently studies have revealed that RNase-4 protects neuron degeneration diseases through promoting angiogenesis, neurogenesis, and neuronal survival under stress in neurodegeneration diseases. This review summarizes the molecular characterization, three-dimensional structure, enzymatic properties, and biological functions of RNase-4, and gives fresh perspectives on further investigation and clinical application of RNase-4.

Key words RNase-4, enzymatic activity, angiogenesis, neuron degeneration disease

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00134

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (31170721).

**Corresponding author.

Tel: 86-571-88208008, E-mail: zpxu@zju.edu.cn

Received: April 1, 2013 Accepted: July 16, 2013