

4462~ 4471

- 14 Doetsch F, Caille I, Lim D A, *et al.* Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*, 1999, **97** (6): 703~ 716
- 15 Corti O, Sabate O, Horellou P, *et al.* A single adenovirus vector mediates doxycycline-controlled expression of tyrosine hydroxylase in brain grafts of human neural progenitors. *Nature Biotechnology*, 1999, **17** (4): 349~ 354
- 16 Wagner J, Akerud P, Castro D S. Induction of a midbrain dopaminergic phenotype in Nurr1-overexpressing neural stem cells by type 1 astrocytes. *Nature Biotechnology*, 1999, **17** (7): 653 ~ 659
- 17 Yandava B D, Billingham L L, Snyder E Y. "Global" cell replacement is feasible via neural stem cell transplantation: evidence from the dysmyelinated shiverer mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (12): 7029~ 7034
- 18 Zhang S C, Ge B, Duncan I D. Adult brain retains the potential to generate oligodendroglial progenitors with extensive myelination capacity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (7): 4089~ 4094
- 19 Weiss S. Pathways for neural stem cell biology and repair. *Nature*

Biotechnology, 1999, **17** (9): 850~ 851

Advances in Neural Stem Cells. TANG Jiong, ZHAO Shou-Yuan, LI Chang-Ben (*Institute of Genetics, Fudan University, Shanghai 200433, China*).

Abstract Neural stem cells (NSCs) maintain the potential of proliferation and differentiation in nerve system. The research and application of NSCs have developed into a frontier of neuroscience in recent years. The establishment of NSCs culture *in vitro* offers an efficient way for study on them. Now the focus is on the origin and location of NSCs in brains and their transplantation for therapy of CNS (central nerve system) diseases.

Key words neural stem cells, differentiation, transplantation, Parkinson's disease

线粒体和细胞内钙自稳平衡

陈良怡¹⁾ 邹寿彬 康华光

(华中理工大学生物物理与生物化学研究所, 武汉 430074)

摘要 线粒体对胞浆钙信号调节作用的研究已经历较长时间. 近年, 随着研究方法和技术的不断改进, 发现在绝大多数生理条件下, 线粒体都能参与胞内钙通信过程. 线粒体可感受其周围钙微区的存在从而摄取钙, 又可以通过钠-钙交换和大分子孔道将钙释放出来, 因此可以调节胞浆钙信号的时空特性, 影响相关的细胞功能. 但是, 由于技术上的局限性, 目前的研究仍然存在模糊不清和自相矛盾之处, 有待于进一步研究.

关键词 线粒体, 钙自稳平衡, 钙微区, 钠-钙交换

学科分类号 Q731

线粒体是细胞内的一种重要器官. 很久以前, 被认为是在细胞中生存的细菌, 通过共生作用在细胞内居住下来. 1978 年诺贝尔化学奖授予 Mitchell, 奖励他发现在线粒体上的氧化磷酸化作用. 随后, 线粒体被认为是细胞内的能量发生器, 产生所需要的 ATP. 但是, 实际上线粒体也在其他许多生理过程中都扮演一个重要角色, 例如在神经退行性疾病的发生、体内葡萄糖的代谢作用以及在细胞水平上影响胞内的钙信号、活性氧 (ROS) 的生成和细胞凋亡等. 其中, 人们对线粒体在钙信号方面中的认识经历了一个曲折的过程.

1 线粒体的钙信号研究历史

二三十年前, 人们通过对分离线粒体的研究,

发现它在离体时能够大量累积 Ca^{2+} ^[1], 因此也在钙自稳平衡中起到重要的作用.

20 世纪 80 年代中期, Tsien 等^[2]合成了一系列新的测量胞内游离钙浓度的荧光染料, 包括 ind-1、fura-2 等. 应用这些荧光染料, 发现在生理的刺激条件下, 胞浆游离钙离子浓度 ($[\text{Ca}^{2+}]_c$) 上升幅值最大不超过 $1 \mu\text{mol/L}$. 而测量分离的线粒体的解离常数 K_d 表明, 只有当胞内的钙水平要比它高很多时, 线粒体才能大量摄取钙, 而在正常生理条件下, 线粒体内的钙累积对 $[\text{Ca}^{2+}]_c$ 的影

¹⁾ 通讯联系人.

Tel: (027) 87543104, E-mail: lychen@163.net

收稿日期: 1999-12-19, 修回日期: 2000-04-14

响很小, 因此忽视了线粒体在胞内钙自稳平衡中的作用, 而将其作用仅仅是限制在病理条件下大量的外 Ca^{2+} 进入后的保护作用。

1989 年, Tsien 等^[3] 又合成一种新的荧光染料, rhodamine 2, 经处理后, 可特异性地累积于细胞的线粒体内, 为实时测量线粒体内基质 (matrix) 的 Ca^{2+} 浓度 ($[\text{Ca}^{2+}]_m$) 提供了手段。由于 indo-1 等荧光染料也可以进入线粒体中, 所以 1991 年 Miyata 等^[4] 用 Mn^{2+} 淬灭 (quenching) 胞浆内的 indo-1, 发明了近似测量心肌细胞内的 $[\text{Ca}^{2+}]_m$ 的方法。1993 年, Rizzuto 等^[5-7] 通过将 Ca^{2+} 敏感的水母发光蛋白的 cDNA 融合到线粒体细胞色素 c (cytochrome c) 氧化酶的 VII 亚基上, 将水母发光蛋白能够特异性地表达于线粒体基质内, 使 $[\text{Ca}^{2+}]_m$ 测量的手段更加准确和完善。另一方面, 显微荧光测量的方法也有长足的发展, 包括激光共聚焦显微技术 (confocal)、多光子激发显微技术 (multi-photon excitation, MPE)、电子耦合器件 (charge coupled device, CCD) 以及三维图像重建等技术都应用到荧光探针的信号测量中。大量的研究表明, 在几乎所有细胞的生理条件下, 钙信号传导过程中线粒体都会吸收 Ca^{2+} , 而同时线粒体的钙摄取又会反过来影响胞浆钙信号的传导^[8-14]。

2 线粒体的 Ca^{2+} 调节机制

2.1 线粒体的钙摄取途径

通常线粒体在呼吸代谢时, 将质子不断地泵出体外从而产生内外膜两侧的 $-150 \sim -200$ 的电压差。线粒体附近钙浓度升高时, 协同转运体 (uniporter) 打开实现钙摄取, 它由线粒体内外膜间的电化学梯度来驱动。当线粒体周围的钙浓度上升到转运体的结合力范围时, Ca^{2+} 就通过转运体进入线粒体内, 是一种低结合力 ($K_d = 1 \sim 5 \mu\text{mol/L}$)、高容量的途径, 在丝状体 (mitoplast) 膜上为 20 pS 的 Ca^{2+} 选择性离子通道。近来, 有研究发现肝细胞上可能还存在另一种高穿透力的、快速的途径, 参与细胞受短暂生理刺激后胞浆内钙自稳平衡的恢复过程^[11]。

由于线粒体膜上的协同转运体对 Ca^{2+} 的结合力非常低, 在生理条件下的钙信号过程中, 线粒体是否会起到明显的作用? 存在着两种可能性。其一, 生理刺激下, 转运体对 Ca^{2+} 的结合力可能受胞浆或其他因素而增加; 其二, 线粒体可能会感受

到比整体细胞平均 Ca^{2+} 上升高得多的钙微区 (calcium microdomain) 的影响。目前的研究表明趋向于第二种可能性更大。在空间水平上钙通信可以划分为三个层次, 即最根本事件、基本事件和整体事件^[15]。其中最根本事件和基本事件来源于单个钙释放通道或小群通道的开放, 形成在通道口附近的空间范围内的局部钙升高 (直径大约为 $2 \mu\text{m}$), 而整体事件则是来源于所有钙释放通道的共同开放。在这些局部的钙微区处, 钙上升的幅值比整体细胞的钙上升幅度大得多, 而线粒体膜上的转运体则可以感受到这些局部的钙上升。

Rizzuto^[6] 于 1993 年发现, 少量激活内质网 (ER) 上的 IP_3 型钙释放通道后, 尽管此时整个细胞的平均 $[\text{Ca}^{2+}]_c$ 上升很小, 仍然能够检测到线粒体 $[\text{Ca}^{2+}]_m$ 的快速上升, 表明线粒体应能感受到 IP_3 受体释放通道附近的钙微区。1998 年, 通过使用不同的绿色荧光蛋白 (green fluorescence protein, GFP) 分别标定于线粒体外膜和内质网膜上, 他们进一步发现线粒体与 ER 膜之间在空间上有紧密的联系 ($< 80 \text{ nm}$)^[7]。这项实验证明, 在 ER 或 SR 钙库的钙释放过程中, ER 或者 SR 周围的线粒体会感受到比胞浆平均钙高得多的钙微区。Duchen 等^[11] 在心肌和星型胶质细胞上的实验也表明, 线粒体的钙吸收取决于周围钙库的局部释放。另外, Lawrie^[16] 用电子显微镜研究表明, 在非兴奋性细胞上, 线粒体可能位于 ER 附近, 而在可兴奋性细胞上, 则趋向于位于细胞质膜附近。这些都表明, 线粒体会对其附近的钙微区敏感。

2.2 线粒体的钙释放途径

线粒体内累积的 Ca^{2+} 则是通过 $2\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换系统 ($2\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger, NCE) 和大分子通透性转移孔道 (mitochondrial permeabilize transition pore, MPTP) 两种途径释放到胞浆中去的。其中, $2\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换的途径较慢且容易饱和。MPTP 是电压门控的阳离子通透性孔道, 其开放受线粒体内的钙填充程度和氧化物质等因素的影响, 而其关闭受 pH 值和腺嘌呤核苷酸 (adenine nucleotide) 等因素来控制。它有高和低阻抗两种模式, 分别在细胞的正常生理和病理条件下起作用。在低阻抗状态时, $[\text{Ca}^{2+}]_m$ 的上升和线粒体内 pH 的变化可以触发通道以一种“闪烁 (flickering)”的方式打开, 使小分子物质如 Ca^{2+} 能够通透; 而在高阻抗模式下, 可非选择性地通过大分子物质 (分子质量 1.5 ku), 使线粒体结构破

裂, 诱导细胞凋亡^[8, 11, 17, 18]. 图 1 总结了线粒体的

钙调控途径和相关的药物.

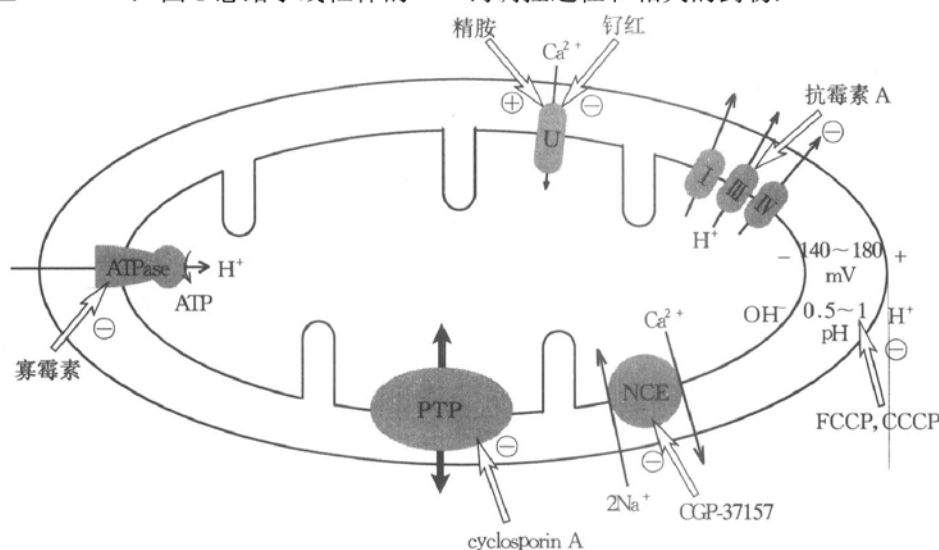


图 1 几种影响线粒体 Ca^{2+} 调节能力的药物

⊙代表激活作用, ⊖代表抑制作用. 线粒体的协同转运体 (uniporter, U) 受一系列的物质调节, 如精胺 (seprimine) 类的聚胺物质可激活其 Ca^{2+} 转运功能, 而钌红类的多价阳离子可抑制其开放; CGP-37517 可抑制通过 $2\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ 交换 ($2\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ exchanger, NCE) 的线粒体 Ca^{2+} 释放; cyclosporin A (CsA) 抑制通过 MPTP 的 Ca^{2+} 释放; 质子打孔剂 FCCP 和 CCCP 通过使内外膜间由质子产生的电化学梯度崩溃来促使线粒体基质 (matrix) 内钙排空; 抗霉素 A (antimycin A) 抑制电子传输链上的复合体 III 的功能, 从而也可以使线粒体内外电位差崩溃. 因为电位差的崩溃会引起呼吸链和 ATP 合酶的反转, 将质子泵出基质以及将 ATP 转换成 ADP, 所以为了防止细胞内 ATP 的耗竭, FCCP 和抗霉素 A 等物质常与具抑制 ATP 酶功能的寡霉素 (oligomycin) 一同使用.

3 线粒体调节钙信号的时空特性

一系列的实验都证明, 线粒体能够调节胞内钙信号的时空特性. 例如, 在爪蟾卵母细胞上, 发现钙振荡的波型由于线粒体的钙摄取作用而改变. 在可兴奋性细胞上, 去极化引起胞内钙的快速上升和缓慢下降的双向曲线, 用线粒体的解耦联剂作用后, 其动力学曲线会变成单纯的快速上升相 (幅值同时增加) 而去掉了缓慢的恢复相. 在其他的非兴奋性细胞上, 线粒体的钙摄取功能比较复杂和微妙. 在 T 淋巴细胞上, 发现解耦联剂 CCCP 会影响容量性钙进入 (capacitative calcium entry) 或钙释放激活的钙通道 (calcium release activated calcium channel) 电流 I_{CRAC} 的幅值, 他们就假设线粒体的钙吸收会减少位于 I_{CRAC} 通道口处 $[\text{Ca}^{2+}]_e$ 的上升, 使 I_{CRAC} 通道持续开放, 总的钙进入增加, 钙库的填充更加有效率. 一旦线粒体的功能被抑制, 则 I_{CRAC} 通道附近的 Ca^{2+} 浓度容易达到较高的水平从而限制钙库的填充^[11]. 但是, 线粒体通过 $2\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ 交换释放线粒体内 Ca^{2+} , 它在胞浆 $[\text{Ca}^{2+}]_e$ 水平较高时也起作用, 那么, 为什么不在

I_{CRAC} 通道附近处释放 Ca^{2+} 而抑制钙库的填充呢? 可能的解释来源于线粒体的特殊空间结构: 在 HeLa 细胞上, 线粒体形成一个连续的网状结构^[7]. 表明 Ca^{2+} 可能会在线粒体的一部分被摄取而在其他的部分被释放出来——类似于胰腺腺泡细胞上通过 ER 网状的器官结构来调节 Ca^{2+} 信号的能力. 这样, 在 I_{CRAC} 通道附近的线粒体吸收 Ca^{2+} , 然后远离 I_{CRAC} 通道位置的线粒体再释放 Ca^{2+} , 从而保证 ER 钙库的充分填充.

线粒体上也存在一种钙诱导的钙释放过程 (mitochondrial calcium induced calcium release, mitochondrial CICR)^[8, 17, 19]. 分离的线粒体实验表明, 当在外液中加入含钙的溶液后, 线粒体会快速累积钙, 到一定程度以后线粒体会产生一个“全或无”的钙峰, 其特性类似于在胞浆中观察到的 CICR 过程 (图 2).

这个过程主要涉及到 MPTP 以低阻抗方式闪烁开放. 首先, 线粒体周围的 Ca^{2+} 上升会使转运体起作用, Ca^{2+} 进入线粒体; 然后质子被泵出, 线粒体内的 pH 增加; 高的 pH 值会促进 MPTP 的开放, 使 Ca^{2+} 通过 MPTP 外流, 线粒体内酸化,

内外膜间质子梯度和膜电位的消失。线粒体内酸化会关闭通道；最后呼吸链过程会恢复质子梯度，完成一个循环。这样，瞬态的 MPTP 开放会产生“全或无”式的钙峰，它又会在该线粒体周围形成一个局部化的钙微区，触发周围的 ER 产生 CICR 过程或是被其他静息的线粒体摄取形成新的释放过程。线粒体的 CICR 允许钙振荡从一个线粒体传到细胞内或细胞间网络，线粒体可以与内质网一起，帮助放大 IP_3 依赖的钙振荡和促进它的发生。

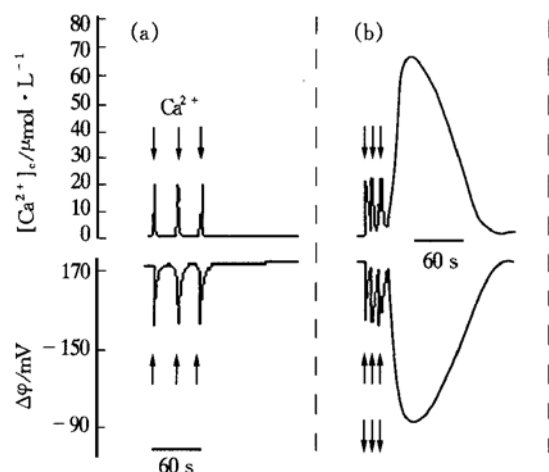


图2 线粒体对钙信号的影响

单独分离的线粒体悬浮于溶液中，箭头代表吹加游离钙离子。(a) 缓慢吹加含钙溶液，线粒体会暂时摄取钙，引起线粒体膜电位的暂时下降。(b) 多次快速吹加含钙溶液，线粒体摄取钙达到一定程度时，会引起线粒体 CICR 反应，表现为溶液中较大的钙浓度上升。

4 线粒体摄取 Ca^{2+} 的作用

4.1 生理条件

在生理条件下，线粒体可以起钙缓冲作用。Xu 等^[14]在肾上腺嗜铬细胞上的工作表明，线粒体在 $[Ca^{2+}]_c < 1 \mu\text{mol/L}$ 时，其摄取作用小于其他的胞内钙清除机制，而当 $[Ca^{2+}]_c > 1 \mu\text{mol/L}$ 时，线粒体的钙摄取将占主导地位，线粒体可以扮演一种慢速和高容量的钙缓冲角色。不仅如此，它还可以作为钙库单独起作用。我们小组的工作证明^[12]，在胰腺 β 细胞上，L-精氨酸诱导的 $[Ca^{2+}]_c$ 升高信号中存在一种对 IP_3 和咖啡因都不敏感的钙库释放，且被线粒体抑制剂 FCCP 和钌红所阻断。

除此之外，线粒体还可反向调节胞浆钙信号的动力学过程，影响许多钙信号相关的生理过程。例如，在神经末梢细胞突触传递中，线粒体会摄取大量的 Ca^{2+} ；当刺激停止后，再缓慢释放出来，使

胞浆游离钙浓度 $[Ca^{2+}]_c$ 较长时间维持在较高的水平上，从而在突触后增强 (post tetanic potentiation) 机制中起了重要作用。应用线粒体钙转运的抑制剂可以抑制突触后增强效应^[20]。在胰腺 β 细胞上，一方面，它通过影响胞内钙信号影响葡萄糖刺激后的胰岛素分泌动力学过程，另一方面，线粒体的代谢也会产生非 Ca^{2+} 和 ATP 的因子触发胰岛素的分泌^[21]。

由于线粒体是细胞产生 ATP 能量的细胞器，所以它摄取 Ca^{2+} 的另一个重要作用是上调能量代谢。由于上升的能量需求总是与胞浆 $[Ca^{2+}]_c$ 上升相连 (如分泌或肌肉收缩)，所以 Ca^{2+} 就应该能够调节氧化磷酸化过程。事实也是如此，线粒体的钙摄取影响克雷伯氏循环 (Kreb's cycle) 的一些关键的酶。已知有三种线粒体内的脱氢酶 (dehydrogenase) 受到 Ca^{2+} 的调节：异柠檬酸盐 (NAD^+ -isocitrate)-脱氢酶、酮戊二酸 (2-oxoglutarate)-脱氢酶和丙酮酸盐 (pyruvate)-脱氢酶 (ICDH、OGDH 和 PDH)。它们或是通过磷酸化反应，或是受 Ca^{2+} 的直接作用而上调^[22]。

在肝细胞上，胞浆内 IP_3 依赖的钙振荡可以同时引起线粒体内的钙振荡，然后再引起线粒体 NAD^+ 到 NADH 的变化。由于去磷酸化和激活 PDH 需要时间，所以 NADPH 的变化比 $[Ca^{2+}]_m$ 的变化时间持续较长，这样它就成为胞浆钙振荡的信号积分装置，高频率的胞浆钙振荡就被解码为线粒体的持续代谢刺激^[10]。

4.2 病理条件

在谷氨酸毒性或缺氧的心脏疾病等许多病理条件下，线粒体作为大的钙存储器官可以起到保护作用；另一方面，它又会参与细胞的凋亡 (apoptosis) 和坏死 (necrosis) 过程。线粒体的持续 Ca^{2+} 累积会产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS)，线粒体的电子传输链会持续产生超氧化自由基 (superoxide hydroxyl)，从各个位点被释放出来，打开线粒体膜上 MPTP 通道，使其处于高阻抗状态。当 MPTP 通道处于低阻抗的闪烁状态时，它参与正常生理条件下的钙信号过程；而当 MPTP 通道处于高阻抗状态时，其作用是不可逆的，对于细胞的功能有深远的影响^[11, 18]。例如，这种 MPTP 的激活会引起渗透压的改变、ATP 的耗竭和线粒体肿胀。由于其内膜比外膜大，引起外膜的破裂，内外膜间的破坏性分子释放到胞浆中，其中包括凋亡诱导因子 (apoptosis-inducing factor,

AIF)、细胞色素 c 等。它们是细胞凋亡的早期步骤,也参与神经退行性疾病如 Alzheimer's disease 和 Parkinson's disease 的发病机制中,应用 MPTP 的抑制剂 cyclosporin A (CsA) 可以抑制凋亡、缺血和神经退行性疾病^[18, 23]。在皮层和小脑颗粒的神经元上, CsA 还会减少 NMDA 引起的细胞死亡^[24]。

5 目前研究的局限性

由于线粒体位于细胞胞浆内,而单独分离的线粒体的特性与在体时有很大的差别,因而造成研究线粒体的难度增加,以致很长时间内它对钙信号调控的功能受到忽视。随着显微荧光成像技术和荧光染料的发展,线粒体的重要作用已被越来越多的实验所证实。但是,由于技术的局限性,这方面的研究仍然存在许多不清楚之处。一方面,特定的线粒体药物的作用可能不专一,例如,研究线粒体的钙摄取的功能时,常使用解耦联的方法(应用解耦联剂如 CCCP)进行研究。但是,此时钙信号的变化很难确定是线粒体的钙摄取作用被阻断还是由于线粒体膜电位 $\Delta \Psi_m$ 丧失导致的 ATP 耗尽引起的;另一方面,即使是在相同的生理条件下,细胞不同,使用的测量方法不同,得到的结果也截然不同。例如, Miyata 等^[4, 13]用 Mn^{2+} 淬灭 indo-1 测量 $[Ca^{2+}]_m$ 的方法以及之后周专等对此方法的改进的实验都得出结论,即正常的生理刺激下,心肌细胞线粒体基质内 $[Ca^{2+}]_m$ 变化在 200~300 nmol/L 左右;而 Rizzuto 等^[5]应用定向的水母发光蛋白测量 $[Ca^{2+}]_m$ 的方法却表明,在 CHO.T 细胞上,ATP 刺激后的 $[Ca^{2+}]_m$ 会从基准的 < 200 nmol/L 上升到 > 10 μ mol/L,两者之间存在着极大的差异。

对于钙振荡过程中线粒体作用的研究也存在着许多相互矛盾之处。Jouaville 等^[9]在爪蟾卵母细胞上发现的钙振荡可以被线粒体的膜电位所调制——线粒体的膜电位越高,其钙摄取的作用越大,振荡就越快;而 Duchon 等^[25]的研究小组在研究星型胶质细胞的钙振荡传播时候,却发现相反的结果,当线粒体的作用被阻断时,振荡反而加快。这些差异可能在于线粒体在细胞内所处的位置和接触的钙释放通道的种类不同。但是这些差异性如何产生以及细胞是否由于功能不同来影响胞内线粒体的形状和位置尚无报道。

综上所述,线粒体在胞内钙信号传导过程中不仅仅限于钙缓冲的作用,它作为一种可兴奋性细胞

内器官,可以产生和传导钙信号^[11, 17]。这方面的进一步研究将为清楚阐明线粒体的功能和深入研究许多与线粒体相关的疾病奠定基础。

参 考 文 献

- Goffeau A, Pedersen P L, Lehninger A L. The kinetics and inhibition of the adenosine diphosphate-adenosine triphosphate exchange catalyzed by purified mitochondrial nucleoside diphosphokinase. *J Biol Chem*, 1967, **242** (8): 1845~1853
- Gryniewicz G, Poenie M, Tsien R Y. A new generation of fluorescent calcium indicators with greatly improved fluorescence properties. *J Biol Chem*, 1985, **260** (6): 3440~3450
- Minta J P, Tsien R Y. Fluorescent indicators for cytosolic calcium based on rhodamine and fluorescein chromophores. *J Biol Chem*, 1989, **264** (14): 8171~8178
- Miyata H, Silverman H S, Sollott S J, *et al.* Measurement of mitochondrial free Ca^{2+} concentration in single rat cardiac myocytes. *Ame J Physiol*, 1991, **261** (4Pt2): H1123~1124
- Rutter G A, Burnett P, Rizzuto R, *et al.* Subcellular imaging of intramitochondrial Ca^{2+} with recombinant targeted aequorin: significance for the regulation of pyruvate dehydrogenase activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (11): 5489~5494
- Rizzuto R, Brini M, Murgia M, *et al.* Microdomains with high Ca^{2+} close to IP_3 sensitive channels that are sensed by neighboring mitochondria. *Science*, 1993, **262** (5134): 744~747
- Rizzuto R, Pinton P, Richard A T, *et al.* Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca^{2+} responses. *Science*, 1998, **280** (5370): 1763~1766
- Ichas F, Jouaville L S, Sidash S S, *et al.* Mitochondrial calcium spiking: a transduction mechanism based on calcium-induced permeability transition involved in cell calcium signaling. *FEBS Lett*, 1994, **348** (2): 211~215
- Jouaville L S, Ichas F, Holmuhamedov E L, *et al.* Synchronization of calcium waves by mitochondrial substrates in *Xenopus laevis* oocytes. *Nature*, 1995, **377** (6548): 438~441
- Hajnóczky G, Robb-Gaspers L D, Seitz M B, *et al.* Decoding of cytosolic calcium oscillations in the mitochondria. *Cell*, 1995, **82**: 415~424
- Duchen M R. Contributions of mitochondria to animal physiology: from homeostatic sensor to calcium signalling and cell death. *J Physiol*, 1999, **516** (1): 1~17
- 曾旭辉, 瞿安连, 姜雪林, 等. 大鼠胰腺 β 细胞内的钙库诱发钙信号. *科学通报*, 1999, **44**: 2058~2062
Zeng X H, Qu A L, Lou X L, *et al.* *Chinese Science Bulletin*, 1999, **44**: 2058~2062
- Zhuan Z, Matlib A, Bers D M. Cytosolic and mitochondrial Ca signals in mammalian ventricular myocytes. *J Physiol (London)*, 1998, **507** (Pt2): 379~403
- Xu T, Narashi M, Kang H G, *et al.* Kinetic study of Ca^{2+} binding and Ca^{2+} clearance in the cytosol of adrenal chromaffin cells. *Biophys J*, 1998, **73** (1): 532~545
- Berridge M J. Elementary and global aspects of calcium signaling. *J Physiol*, 1997, **499** (2): 291~306
- Lawrie A M, Rizzuto R, Pozzan T, *et al.* A role for calcium influx in the regulation of mitochondrial calcium in endothelial cells. *J Biol Chem*, 1996, **271** (18): 10753~10759
- Richard J M. Mitochondria—the Kraken wakes. *TINS*, 1998, **21** (3): 95~97
- Ichas F, Mazat J P. From calcium signaling to cell death: two conformations for the mitochondrial permeability transition pore.

- Switching from low- to high-conductance state. *Biochim Biophys Acta*, 1998, **1366** (1~2): 33~50
- 19 Selivanov V A, Ichas F, Holmuhamedov E L, *et al.* A model of mitochondrial Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release simulating the Ca^{2+} oscillations and spikes generated by mitochondria. *Biophys Chem*, 1998, **72** (1~2): 111~121
- 20 Tang Y G, Zucker R S. Mitochondrial involvement in post-tetanic potentiation of synaptic transmission. *Neuron*, 1997, **18** (3): 483~491
- 21 Maechler P, Kennedy E D, Pozzan T, *et al.* Mitochondrial activation directly triggers the exocytosis of insulin in permeabilized pancreatic beta-cells. *EMBO J*, 1997, **16** (13): 3833~3341
- 22 Rutter G A, Fasolato C, Rizzuto R. Calcium and organelles: a two-sided story. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, **253** (3): 549~557
- 23 Bernardi P. The permeability transition pore. Control points of a cyclosporin A-sensitive mitochondrial channel involved in cell death. *Biochim Biophys Acta*, 1996, **1275**: 5~9
- 24 Schinder A F, Olson E C, Spitzer N C, *et al.* Mitochondrial dysfunction is a primary event in glutamate neurotoxicity. *J Neurosci*, 1996, **16** (19): 6125~6133
- 25 Boitier E, Rea R, Duchon M R. Modulation of the propagation of intracellular calcium waves by mitochondria in rat cortical astrocytes. *Biophys J*, 1999, **76** (1): A223.

Mitochondria and Calcium Homeostasis. CHEN
Liang-Yi, ZOU Shou-Bin, KANG Hua-Guang

(*Institute of Biophysics and Biochemistry, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China*).

Abstract It had been a long time to study the effect of mitochondria in the regulation of cytosolic calcium signal. Recently, following the development of new method and technology, it is found that mitochondria plays an important role in calcium signaling. Mitochondria can sense the existence of surrounding calcium microdomains and uptake Ca^{2+} . It can also release Ca^{2+} through $2\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger and mitochondrial permeabilize transition pore. Therefore, the time-spatio characteristic of cytosolic calcium signal can be regulated and related cellular function can be affected by mitochondria. However, due to the limitation of technique used now, confused and contradictory results are often obtained and further exploration is needed.

Key words mitochondria, calcium homeostasis, calcium microdomain, $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger

神经生长抑制因子研究进展*

季清洲 任宏伟 李令媛 茹炳根¹⁾

(北京大学生命科学学院, 蛋白质工程国家重点实验室, 北京 100871)

摘要 神经生长抑制因子 (neuronal growth inhibitory factor, GIF) 又名金属硫蛋白-III (metallothionein-III, MT-III), 特异分布于中枢神经系统 (CNS), 是神经系统中第一个被鉴定的具有神经元生长抑制功能的蛋白。GIF 一级序列、高级结构、金属结合特性类似于其他 MTs, 基因结构也与其他 MTs 高度同源, 但表达调控途径相异。GIF 可能以其 β 结构域的 CPCP 区, 与脑组织提取物中的相关因子结合, 进而表现其生物学功能。有研究认为 GIF 与阿尔茨海默等脑相关疾病均有密切关系。

关键词 神经生长抑制因子, 金属硫蛋白, 功能, 阿尔茨海默病

学科分类号 Q516

“神经营养因子缺乏”假说曾被用来解释阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的发生, 而在 80 年代末, 则有人认为 AD 严重的神经元退变与丧失可能是其代偿性过度生长的结果。Uchida 等^[1]研究表明 AD 脑中具有较高的神经营养活性, 其原因可能是由于某种神经生长抑制物质的降低。1991 年, 他们从正常人脑组织中分离到了这一物质, 并命名为神经生长抑制因子 (neuronal growth

inhibitory factor, GIF), 它是神经系统中第一个被鉴定的具有神经元生长抑制功能的蛋白。

进一步研究发现 GIF 的基因, 蛋白质一级结构与金属硫蛋白 (metallothioneins, MT) 高度同

* 九五国家重点科技攻关 (96-C02-01-09) 资助项目。

¹⁾ 通讯联系人。

Tel: (010) 62751842, E-mail: ru@public.east.cn.net

收稿日期: 1999-09-25, 修回日期: 2000-02-28