

酸敏感离子通道研究进展*

伍龙军 徐天乐**

(中国科学技术大学神经生物学与生物物理学系, 合肥 230027)

摘要 组织酸化是生理和病理下常见的现象. 神经元可以通过酸敏感的离子通道 (ASICs) 来感受细胞周围的 pH 值的降低. ASICs 属于 NaC/DEG 家族的一个成员. 目前, 已发现了 6 个 ASICs 亚基, 它们在外周和中枢神经系统中广泛表达, 其同聚体和异聚体通道有着各种不同的电生理学特性. ASICs 在机体感觉尤其是痛觉中起着至关重要的作用.

关键词 组织酸化, 酸敏感离子通道 (ASICs), 痛觉

学科分类号 Q42, Q51

由于机体代谢过程中可产生酸类物质, 因此组织酸化是生理和病理条件下的一种常见现象. 如在炎症、缺血和肿瘤组织中, pH 可以降低至 6.0 以下. 那么, 机体又如何去感受这种 pH 值的降低呢? 目前的研究表明, 细胞至少可以通过两种途径去感受胞外的质子 (H^+): 一种是 H^+ 可以调控众多电压门控离子通道和配体门控离子通道, 如电压门控的钠、钾、钙通道, NMDA 受体, GABA_A 受体等; 另一种是 H^+ 也可以直接门控某些离子通道, 如酸敏感的离子通道 (acid sensing ion channels, ASICs). 愈来愈多的研究表明, ASICs 在痛觉、触觉、味觉等感觉中发挥着重要的作用. 同时, ASICs 亚基在进化中表现的非常保守 (大鼠和人的某些 ASICs 氨基酸序列有 99% 是相同的), 这也说明了 ASICs 在神经活动和功能中有着重要作用. 自 Waldmann 等在 1997 年克隆了第一个 ASICs 亚基后, 对 ASICs 的研究成为近几年来神经生物学中发展最为迅速的领域之一.

1 ASICs 通道属于 NaC/DEG 家族中的一员

NaC (Na^+ channel) / DEG (degenerin) 家族是一大类 amiloride 敏感的钠通道家族, 其成员的共同特点是均为非电压门控的对 Na^+ 有高通透性的离子通道, 且均可被 amiloride 所阻断. 这些通道通常由数个亚基组成, 而不同亚基却有着类似的拓扑学结构. 目前普遍接受的模型是亚基包含两个疏水跨膜区 (TM) 和一个大的富含半胱氨酸的胞外环, 其 N 端和 C 端均在胞内 (图 1)^[1]. 令人感兴趣的是, 该模型类似于 ATP 受体 (P2X) 的亚基结构, 然而这两类受体并无任何同源之处.

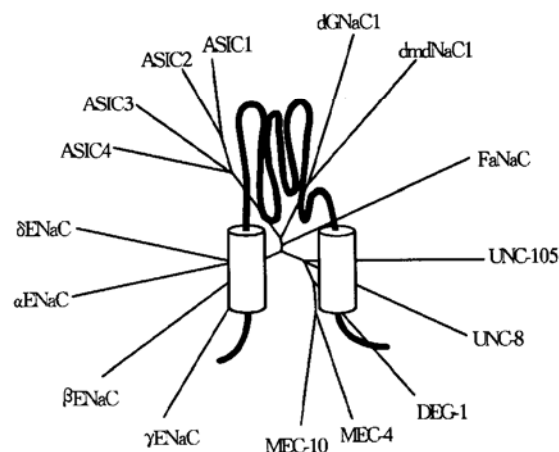


Fig. 1 Five members of the NaC/DEG family and the topography of their subunits^[1]

图 1 NaC/DEG 家族的五名成员及亚基的结构示意图^[1]

目前, NaC/DEG 家族的已知成员有 5 个 (图 1)^[1]: 哺乳动物上皮钠通道 (epithelial Na^+ channel, ENaC); 线虫 DEG; 软体动物中肽激活的钠通道 (FMRFamide-activated Na^+ channel, FaNaC); 果蝇中 amiloride 敏感的钠通道; 哺乳动物中酸敏感的离子通道 (ASICs). 这些分支又包含着不同的亚基成员并行行使着各种不同的功能. ENaC 包含 α 、 β 、 γ 、 δ 四个亚基, 它们在哺乳动物肾、肺和结肠等上皮内表达, 通常不需要任何刺激时保持持续开放, 负责对 Na^+ 进行重吸收. DEG 包括 MEC-4、MEC-10、UNC-8、UNC-105 和

* 国家杰出青年基金 (30125015)、教育部跨世纪优秀人才基金、科技部 973 项目 (G1999054000) 和中国科学院“百人计划”资助.

** 通讯联系人.

Tel: 0551-3603510, E-mail: xutianle@ustc.edu.cn

收稿日期: 2001-09-13, 接受日期: 2001-10-27

DEG-1 5 个成员, 这些通道在受机械刺激时开放, 因而在线虫的触觉和机械感受中发挥作用. FaNaC 是 NaC/DEG 家族中唯一由神经肽门控的阳离子通道. 已有证据表明该通道是 4 个亚基所组成的同聚体. 最近在果蝇中, 也发现了两个 NaC/DEG 家族成员: dGNaC1 (*Drosophila* gonad-specific Na⁺ channel 1) 和 dmdNaC1 (*Drosophila* multiple dendritic neurone Na⁺ channel 1). 它们在果蝇的触觉和本体感觉以及发育过程中可能有着重要的作用. ASICs 是一类由 H⁺ 门控的阳离子通道, 目前已知有 6 个成员, 它们在痛觉中发挥尤为重要的作用, 我们随后将对这一类离子通道的特性及功能加以详述.

2 ASICs 通道家族的分子多样性

ASICs 是 NaC/DEG 家族最近才发现的一个分支, 然而自第一个 ASICs 成员被克隆后, 其成员迅速增加, 到目前为止已有 6 个亚基被发现: ASIC1a (brain Na⁺ channel 2, BNC2) 和其剪接变体 ASIC1b (ASIC β); ASIC2a (mammalian degenerin 1, BNC1 或 MDEG1) 和其剪接变体 ASIC2b (MDEG2); ASIC3 (dorsal root acid sensing ion channel, DRASIC); ASIC4 (spinal cord ASIC, SPASIC)^[2]. ASICs 家族的 6 个亚基可以组成同聚体或异聚体酸敏感离子通道. 在爪蟾卵母细胞中表达各亚基研究发现, ASIC1a、ASIC1b、ASIC2a、ASIC3 均可形成同聚体阳离子通道, 这些通道表现出不同的电流表型和通道特性. 而 ASIC2b 或 ASIC4 形成的同聚体是无功能的, 它们一般作为辅助或调节亚基与其它亚基形成异聚体 (表 1). 通过免疫共沉淀及共表达等方法已鉴定的 ASICs 异聚体通道主要包括 ASIC1a+ 3、ASIC1a+ 2a、ASIC2a+ 2b、ASIC2a+ 3 和 ASIC2b+ 3 (表 2)^[2]. 这些异聚体通道表现出很多与同聚体通道不同的特性如电流表型、离子选择性等. 然而在神经元中, 由 H⁺ 所引起的电流表型多种多样, 某些是在表达系统中从未观察到的, 提示可能还存在我们尚未发现的 ASICs 异聚体或 ASICs 亚基及另外的剪接体^[3].

3 ASICs 通道的电生理学特性

最早对 H⁺ 门控通道电流的研究主要集中在背根神经节 (DRG) 神经元中. 随着对 ASICs 家族各亚基的克隆, 在表达系统中 (如爪蟾卵母细胞和

COS 细胞) 研究各亚基同聚体和异聚体通道电流成为较为常用的手段. ASIC1a 在脑、脊髓和 DRG 中广泛表达, 其同聚体通道对 H⁺ 敏感性较高 (pH₅₀= 6.0) 且电流只表现出快速失活成分. 该通道主要通透 Na⁺, 但对 Ca²⁺ 也有一定的通透性. ASIC1b 是 ASIC1a 的剪接变体, 它仅在 DRG 中有表达, 该通道与 ASIC1a 有类似的 H⁺ 敏感性和动力学特性, 不同的是它仅对 Na⁺ 有通透性^[4]. ASIC2a 最初被证明只在脑和脊髓中有表达, 然而最近的研究却表明 ASIC2a 也在 DRG 有表达, 但它被认为分布在 DRG 的轴突末端上^[5]. ASIC2a 对 H⁺ 敏感性较低 (pH₅₀= 4.35), 其电流没有稳态电流成分, 但快速失活电流动力学在脊髓和脑中也有较大的差异. ASIC2b 是 ASIC2a 的剪接变体, 它在体内分布很广泛, 在脑和 DRG 中均有表达. 但是该亚基在爪蟾卵母细胞中表达的同聚体是无功能, 它通常作为辅助亚基和其他 ASICs 亚基共表达形成异聚体. ASIC3 是 DRG 神经元中特异存在的酸敏感离子通道, 它所介导的电流包含两种成分: 快速失活成分和稳态成分. 这两种电流成分对 H⁺ 的敏感性不同, 其 pH₅₀ 分别是 pH 6.5 和 3.5. ASIC4 是最近发现的另一个 ASIC 亚基, 它的分布也非常广泛, 在脑、脊髓、内耳及部分 DRG 神经元中均有表达. 但在表达系统中, ASIC4 亚基也不能形成有功能的同聚体通道. 有趣的是, 它却和 ASIC2b (另一个单独表达时无功能的亚基) 常共存于同一个神经元中^[6] (表 1).

对异聚体 ASICs 通道的研究通常是在表达系统中进行的. 异聚体 ASICs 通道通常表现出与同聚体不同的电流特性、离子选择性和 pH 敏感性等. 如 ASIC1a+ 2a 和 ASIC2a+ 2b 异聚体通道表现出稳态电流, 而 ASIC1a 和 ASIC2a 同聚体通道均只有快速失活电流. ASIC2a+ 3 异聚体通道电流要远大于每个亚基形成的同聚体通道电流 (近 20 倍)^[7]; ASIC2b+ 3 形成的异聚体虽没有改变 ASIC3 的电流表型, 但却改变了 ASIC3 通道的离子选择性, 其稳态电流成分由 Na⁺ 和 K⁺ 共同介导. ASIC2a+ 2b 通道的稳态成分对 Na⁺ 和 K⁺ 也没有选择性. 而 ASIC1a+ 3 则只表现出类似于 ASIC1a 同聚体通道的特性. 在以上这 5 种异聚体通道中, ASIC1a+ 2a 在脑中有表达, 而 ASIC2a+ 3 已被证明在脑和 DRG 中均有表达, 但其他几种异聚体通道只在表达系统中证明是有功能的^[2] (表 2).

Table 1 The properties of the ASICs homomers^[2]表 1 ASICs 同聚体通道特性^[2]

ASICs 同聚体	别名	残基 数目	表达	快速失活 电流	稳态 电流	pH ₅₀	电导/pS	离子 选择性	阻断剂	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹
ASIC1a	BNaC2	526	DRG, 脑, 脊髓	T _{inact} 2.1s	无		14.3	Na ⁺ > H ⁺ > Ca ²⁺ > Li ⁺ > K ⁺	Amiloride Benzamil EIPA	10 10 10
ASIC1b	ASICβ	513	DRG	有	小?	5.9		Na ⁺ , K ⁺	Amiloride	21
ASIC2a	MDEG1, BNC1	512	脑 脊髓	T _{inact} 3.15s T _{inact} 0.42s	无	4.35	10.4	Na ⁺ , Li ⁺ > K ⁺	Amiloride Gadolinium	147 28 > 1000
ASIC2b	MDEG2	563	DRG, 脑	无活性	无活 性					
ASIC3	DRASIC	533	DRG	有	有	瞬时: 6.5 稳态: 3.5	12.6	gNa ⁺ / gK ⁺ = 13.5	Amiloride	63
ASIC4	SPASIC	539	脑, 脊髓, 内耳	无活性	无活 性					

Table 2 The properties of the ASICs heteromers^[2]表 2 ASICs 异聚体通道特性^[2]

ASICs 异聚体	共表达	快速失活 电流	稳态 电流	pH ₅₀	电导/pS	离子 选择性	阻断剂	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹
ASIC1a+ 3		T _{inact} 0.19s	无					
ASIC1a+ 2a	脑	T _{inact} 2.2s	有	4.8	10	Na ⁺ , Li ⁺ > K ⁺ > Ca ²⁺	Amiloride	20
ASIC2a+ 2b		有	有	4	13.7	瞬时 Na ⁺ 稳态 Na ⁺ , K ⁺	Amiloride (full)	500
ASIC2a+ 3	三叉神 经, 脑, 睾丸	有	大	瞬时: 4.3 (r) 稳态: 4.1 (r)	18	Na ⁺	Amiloride Gadolinium	50
ASIC2b+ 3		有	有	瞬时: 6.5		Na ⁺ , K ⁺		

4 ASICs 通道的分子特性

ASICs 亚基均由 500~ 600 个氨基酸组成, 其结构包括两个跨膜区、大的胞外环和胞内的 N 端和 C 端。ASIC2a 和其剪接变异体 ASIC2b 虽然在氨基酸序列上差异不大, 但在功能上却有很大区别 (ASIC2a 可形成有功能的同聚体通道, 而 ASIC2b 单独表达却不能形成有功能的通道)。据此 Coscoy 等^[8] 研究发现, ASIC2a 亚基中前 TM1 区域的 9 个氨基酸序列在通道离子通透性和 Na⁺ 离子选择性中有重要作用。其中的 Ile19、Phe20 和 Thr25 三个氨基酸尤为重要, 因为它们突变后, 通道不能区

分 Na⁺ 和 K⁺。另一方面, ASIC2b 与 ASIC3 形成异聚体通道时, 改变了 ASIC3 通道的离子选择性, 这进一步支持了 TM1 区域在通道离子通透性中的重要性。而 ASIC2a 亚基胞外接近 TM2 的位点突变可导致通道的持续开放, 提示该区域与通道的门控相关^[9]。将该区域中 Gly430 (TM2 跨膜前的一个氨基酸) 突变成 Val、Phe 和 Thr 时, 可使 ASIC2a 通道对 H⁺ 的敏感性大大增强 (pH₅₀ 从 pH 4.35 变成 pH 6.7)^[10]。此外, Cottrell 等^[11] 对 FaNaC 通道的研究发现, 它与其配体——FMRFamide 的结合位点在靠近 TM1 的胞外环 120 个氨基酸区域, 提示在 ASICs 中, H⁺ 的结合位点

可能也在同源的该区域附近. ASICs 通道可以受到众多因素的调控. 如在培养的脊髓腹角神经元中, H^+ 门控离子通道随发育而从选择性的通透 Ca^{2+} 转变成选择性的通透 Na^+ . 最新的研究还表明, 神经肽^[12]、温度^[13]和 Zn^{2+} ^[14]等也可改变 ASICs 的门控特性, 对通道进行调控. 另外, ASICs 亚基的 N 端和 C 端还存在着许多潜在的磷酸化和脱磷酸化作用位点, 如 ASIC1a 亚基 C 端第 474 位氨基酸是 PKA 作用位点, 而 N 端第 40 位和 C 端的第 497 位氨基酸则是 PKC 的作用位点. 这些胞内的调控位点也影响着通道的门控特性和功能^[15].

5 ASICs 通道的生理和病理意义

由于组织酸化与痛觉有着直接的关系, ASICs 被认为在痛觉引发或调制中发挥重要作用. 在痛觉特异性 DRG 神经元中, 首先发现了两种 H^+ 诱导的电流: 快速失活电流和双相电流. 因为组织酸化引起的疼痛并不是短暂的, 所以 H^+ 诱导的快速失活电流并不能完全解释 ASICs 在痛觉中的作用, 但双相电流中的稳态成分则可与 H^+ 的长效作用相对应起来. 对 ASICs 亚基的克隆过程中发现了 DRG 神经元特异的 ASIC3 亚基, 它所介导的电流也是双相的, 然而其稳态电流被激活的阈值为 pH 4.0, 远远超过生理和病理情况下的 pH. 随后人们又发现 ASICs 异聚体通道也存在稳态电流, 而且该稳态电流激活的阈值更接近生理状态, 这为进一步阐明 ASICs 在痛觉中的作用提供了依据. 在心脏传入神经元中, 也存在 H^+ 诱导的电流, 对其激活、失活、电流动力学以及拮抗剂敏感性等特性的分析表明该电流可能为 ASIC3 所介导, 进一步的研究证实 ASIC3 在心绞痛、胸痛中起着重要的作用^[16]. ASIC2a 亚基存在于 DRG 的大细胞(负责机械刺激感觉的神经元)中, 该亚基突变小鼠的皮肤对触觉的灵敏度下降, 表明 ASIC2a 对感受触觉作用重大^[17]. 另外, ASIC2a 也在舌头中的味觉受体细胞中表达, 提示 ASIC2a 在酸味感觉中起作用. 在高级中枢神经系统如下丘脑和大脑皮层神经元中, ASIC 也有广泛表达, 提示它们可能在这些脑区发挥重要作用^[18]. 最近 Johnson 等^[19]发现全脑缺血可导致 ASIC2a 亚基在海马、皮层等脑区中的表达量增加. 而另外一个研究小组报道, 在癫痫持续状态模型中, 海马中 ASIC1a 和 ASIC2b 的表达量却显著下降^[20].

6 结 语

虽然对 ASICs 通道的研究尚处于起步阶段, 但是它们作为酸感受器在体内广泛分布, 表明其在神经活动中有重要作用. 对 ASICs 通道的研究使人们相信 H^+ 并不仅是神经活动和代谢的副产物, 而且可能担当神经信号的重任. 事实上, 突触囊泡通常就是酸性的, 因此在量子式释放的突触传递过程中便伴随着可激活 ASICs 的酸性微环境. 如果神经系统利用如此简单的分子作为细胞和细胞之间交流的信号, 这将是一个非常有趣的事情. 对 ASICs 的进一步研究将使我们发现更多的该家族成员. 同时, 人们也期待着神经药理学家能够开发出更多和更特异的 ASICs 通道的阻断剂和拮抗剂, 从而为研究 ASICs 通道的生理作用和病理意义提供更有效的工具.

参 考 文 献

- 1 Waldmann R, Lazdunski M. H^+ gated cation channels: neuronal acid sensors in the NaC/DEG family of ion channels. *Curr Opin Neurobiol*, 1998, **8** (3): 418~ 424
- 2 Reeh P W, Kress M. Molecular physiology of proton transduction in nociceptors. *Curr Opin Pharmacol*, 2001, **1** (1): 45~ 51
- 3 Liu L, Simon S A. Capsaicin, acid and heat-evoked currents in rat trigeminal ganglion neurons: relationship to functional VR1 receptors. *Physio Behav*, 2000, **69** (3): 363~ 378
- 4 Bässler E-L, Ngo-Anh T J, Geisler H-S, *et al.* Molecular and functional characterization of acid-sensing ion channel (ASIC) 1b. *J Biol Chem*, 2001, **276** (36): 33782~ 33787
- 5 Garduño-Añoveros J, Samad T A, Žuvela-Jelaska L, *et al.* Transport and localization of the DEG/ENaC ion channel BNaC1a to peripheral mechanosensory terminals of dorsal root ganglia neurons. *J Neurosci*, 2001, **21** (8): 2678~ 2686
- 6 Gründer S, Geisler H-S, Bässler E-L, *et al.* A new member of acid-sensing ion channels from pituitary gland. *Neuroreport*, 2000, **11** (8): 1607~ 1611
- 7 Babinski K, Catarsi S, Biagini G, *et al.* Mammalian ASIC2a and ASIC3 subunits co-assemble into heteromeric proton-gated channels sensitive to Gd^{3+} . *J Biol Chem*, 2000, **275** (37): 28519~ 28525
- 8 Coscoy S, de Weille J R, Lingueglia E, *et al.* The pre-transmembrane 1 domain of acid-sensing ion channels participates in the ion pore. *J Biol Chem*, 1999, **274** (15): 10129~ 10132
- 9 Adams C M, Snyder P M, Price M P, *et al.* Protons activate brain Na^+ channel 1 by inducing a conformational change that expresses a residue associated with neurodegeneration. *J Biol Chem*, 1998, **273** (46): 30204~ 30207
- 10 Champigny G, Voilley N, Waldmann R, *et al.* Mutations causing neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans* drastically alter the pH sensitivity and inactivation of the mammalian H^+ -gated Na^+ channel MDEG1. *J Biol Chem*, 1998, **273** (25): 15418~ 15422
- 11 Cottrell G A, Jeziorski M C, Green K A. Location of a ligand recognition site of FMRFamide-gated Na^+ channels. *FEBS Lett*, 2001, **489** (1): 71~ 74
- 12 Askwith C C, Cheng C, Ikuma M, *et al.* Neuropeptide FF and FMRFamide potentiate acid-evoked currents from sensory neurons

- and proton-gated DEG/ENaC channels. *Neuron*, 2000, **26** (1): 133~ 141
- 13 Askwith C C, Benson C J, Welsh M J, *et al.* DEG/ENaC ion channels involved in sensory transduction are modulated by cold temperature. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (11): 6459~ 6463
 - 14 Baron A, Schaefer L, Lingueglia E, *et al.* Zn²⁺ and H⁺, coactivators of acid sensing ion channels (ASIC). *J Biol Chem*, 2001, **276** (38): 35361~ 35367
 - 15 Bassilana F, Champigny G, Waldmann R, *et al.* The acid-sensitive ionic channel subunit ASIC and the mammalian degenerin MDEG form a heteromultimeric H⁺-gated Na⁺ channel with novel properties. *J Biol Chem*, 1997, **272** (46): 28819~ 28822
 - 16 Sutherland S P, Benson C J, Adelman J P, *et al.* Acid-sensing ion channel 3 matches the acid-gated current in cardiac ischemia-sensing neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (2): 711~ 716
 - 17 Price M P, Lewin G R, McIlwraith S L, *et al.* The mammalian sodium channel BNC1 is required for normal touch sensation. *Nature*, 2000, **407** (6807): 1007~ 1011
 - 18 Varming T. Proton-gated ion channels in cultured mouse cortical neurons. *Neuropharmacology*, 1999, **38** (12): 1875~ 1881
 - 19 Johnson M B, Jin K, Minami M, *et al.* Global ischemia induces expression of acid-sensing ion channel 2a in rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2001, **21** (6): 734~ 740
 - 20 Biagini G, Babinski K, Avoli M, *et al.* Regional and subunit-specific downregulation of acid-sensing ion channels in the pilocarpine model of epilepsy. *Neurobiol Dis*, 2001, **8** (1): 45~ 58

Progress in Acid-sensing Ion Channels^{*}

WU Long-Jun, XU Tian-Le^{**}

(Department of Neurobiology and Biophysics, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

Abstract Tissue acidosis is a general phenomenon under physiological and pathological conditions. Through acid-sensing ion channels (ASICs), neuron can detect the drops in extracellular pH. ASICs are one of members of DEG/ENaC family. To date, six subunits of ASICs family have been identified. They are widely expressed in the peripheral and central nervous system. The homomers and heteromers channels of these subunits exhibit a variety of electrophysiological properties. ASICs play a critical role in several modalities of sensation, especially nociception.

Key words tissue acidosis, acid-sensing ion channels (ASICs), nociception

^{*} This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (30125015), Outstanding Young Researchers from the Ministry of Education of China, National Basic Research Program (G1999054000), the Outstanding Young Scientists Program of the Chinese Academy of Sciences to XU T L.

^{**} Corresponding author. Tel: 86-551-3603510, E-mail: xutianle@ustc.edu.cn

Received: September 13, 2001 Accepted: October 27, 2001