

酸感受性离子通道生物学特性及其调控*

翁谢川** 郑建全 彭双清 李 锦

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要 酸感受离子通道(ASICs)为 H^+ 门控的阳离子通道, 是一类新的配体门控性离子通道, 属于钠通道超家族的新成员. 作为近来研究的热点, ASICs 具有许多重要的生物学功能, 并很有可能成为抗癫痫、镇痛、提高学习记忆能力和保护神经元缺血损伤作用药理学新靶点. 近来, ASICs 各个亚基已被克隆, 它们在生物体内分布、表达、功能和相关调节因素的研究正受到广泛重视.

关键词 酸感受离子通道(ASICs), 钠通道, 生物学特性, 功能, 调控

学科分类号 Q42, Q51

酸感受性离子通道(acid sensing ion channels, ASICs)是一类新的配体门控性离子通道, 属于钠通道超家族的新成员. 构成通道的亚基都具有 2 个跨膜片段, 并在细胞膜表面形成 2 个环, 而其 N 端和 C 端都位于胞浆内. ASICs 对 Na^+ 的电导与电压依赖性钠离子通道相近, 都是 18~23 pS, 但和后者不同的是, ASICs 不具有电压依赖性. 它在 pH 值降低并小于 7.0 时激活, 最佳的刺激范围在 pH 5.6~6.8 之间, 因此为 H^+ 门控的阳离子通道. ASICs 表达于外周神经、中枢神经以及一些特殊组织中, 并发挥着重要的生物学功能, 它很可能成为神经元缺血保护、镇痛、促进学习记忆和抗癫痫的药理学新靶点^[1]. 本文拟就 ASICs 在生物体内的表达、分布、调节因素及有关的亚基功能等最新研究进展进行综述.

1 酸感受性离子通道的分型、分布和电生理特性

1.1 分型

ASICs 由 4 种基因编码, 共有 ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b, ASIC3 和 ASIC4 等 6 种类型的亚基, 以前它们又相应地称为 ASIC- α /BNC2, ASIC- β , MDEG1/BNC1, MDEG2, DRASIC 和 SPASIC. 组织中的 ASICs 通常由这些亚基组成四聚体, 以同聚体或者异聚体的组合形式

出现. 如在海马神经元, 我们就发现存在着 2 种药理学性质完全不同的新型 ASICs 电流, 它们可能由同源的 ASIC1a 或是同源的 ASIC2a 亚基构成, 也可能由相同或是不同比例的 ASIC1a+2a 亚基构成, ASIC2b 也参与了该电流的构成^[2]. 不同 ASICs 亚基构成的同聚体和异聚体, 往往具有不同的动力学特征, 对 pH 值的敏感性也不同, 因此在组织中很可能发挥着不同的功能^[3].

1.2 分布

ASICs 主要表达于哺乳动物的外周和中枢神经系统中, 在脊髓背根神经节和坐骨神经中, ASIC 的 4 种基因也都有表达. 但它在组织中分布表达也存在着一定的差异: ASIC1a 和 ASIC2b 存在于脑和感觉传入神经元, 而 ASIC1b 仅存在于感觉神经元中; ASIC1 在小、中和大细胞中都有存在, 而 ASIC2 和 ASIC3 主要存在于大细胞中. 在亚细胞定位上, 作为通道蛋白, 它们主要分布于围绕胞体和轴突的细胞膜上, 而不是先前推测的分布在细胞内或是细胞器上^[4].

*国家自然科学基金资助项目(30472019, 30500620)和国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2003CB515406).

** 通讯联系人.

Tel: 010-66930754, E-mail: wengxc2002@yahoo.com.cn

收稿日期: 2006-07-19, 接受日期: 2006-08-03

另外, 在其他一些组织中也陆续发现了 ASICs 的存在, 提示它们可能还发挥某些特异的功能. 如在味觉细胞中有 ASICs 亚基的表达, 该通道电流可以被柠檬酸 (pH=5 时) 激活, 并可以被 ASICs 特异性的阻断剂氨氯吡咪 (amiloride) 所阻断^[9]. 值得注意的是, 尽管 ASIC2a 在味蕾的乳头细胞中有表达^[6], 但是研究发现它并非介导酸的味觉, 其功能还有待进一步探讨^[7]. 最近的研究还发现, 在骨组织^[8]和前庭的感觉神经元和神经节中^[9], 也发现了 ASICs 的存在, 而其具体的功能也在研究之中.

1.3 亚基的电生理学特性

在爪蟾卵母细胞中表达 ASICs 的不同亚基用以研究其电生理学特性. 结果表明, ASIC1, ASIC2a 和 ASIC3 的同聚体电生理药理学特性存在明显的区别. 首先, ASIC1 有 3 种电导状态, ASIC2a 仅表现 1 种, ASIC3 则没有; ASIC1 与 ASIC2a 激活后, 在不同的电导模式中发生改变, 它们的动力学特性和通道的开放几率存在差别, 而 ASIC3 激活后, 动力学性质和开放几率是恒定的; 激活 ASIC1, ASIC2a 与 ASIC3 的 pH_{50} 分别为 5.9, 5.0 和 5.4; 在外部酸性离子持续存在的情况下, ASIC1 和 ASIC3 快速完全失活 (频率分别为 2.0 和 4.5 s^{-1}), 但 ASIC2a 仅仅缓慢部分失活 (频率为 0.045 s^{-1})^[10]. 而亚基 ASIC4 单独表达时不能随 pH 的降低而激活. 该电生理学特性在 HEK293 细胞中也得到了证实.

常用的神经细胞株 PC12 可能是研究中枢 ASICs 一个较好的细胞株. 电生理特性表明, 该细胞株中可能有 ASIC1a, 或者 ASIC1a/ASIC2b 的杂合体. 在该细胞株克隆表达 ASICs 发现, 同聚体 ASIC1a 对 Ca^{2+} 离子有高的通透性, 但是其他 ASICs 包括同聚体 ASIC1b, ASIC2a 以及异聚体 ASIC1a/ASIC2a, 对 Ca^{2+} 通透性都相对低得多^[11].

2 ASICs 的生物学功能

除蜘蛛毒素 PcTX1 能特异性地阻断 ASIC1a 亚基外, ASICs 其他亚基目前尚无特异性阻断剂. 另外, 由于机体组织在 ASIC 构成上存在着复杂性和多样性^[2], 这些都在一定程度上影响了对 ASICs 功能和机制的研究. 尽管如此, 关于 ASICs 的功能研究仍取得了许多重要的进展.

2.1 ASICs 在外周神经元的功能

在外周神经元中, ASICs 已被广泛认为是一种伤害性感觉的受体, 并在炎症、缺血和组织酸中毒

等病理变化中起作用. 其病理机制可能为: 在风湿性关节炎、心肌缺血、肌肉的劳累中, 导致局部组织的酸增高或酸中毒, 引起 ASIC 通道开放并激发各种病理生理效应. 因此, ASICs 在人的伤害性感受中是主要的酸传感器并认为是伤害性感觉的受体^[12].

2.2 ASICs 在中枢神经系统的功能

近两年来, 关于 ASICs 功能和机制的研究进展十分迅速. 在中枢神经系统, H^+ 已经被认为是一个神经信号分子或是调质, 参与调节了 ASIC 通道的功能^[1]. ASICs 各亚基在中枢神经系统组成有功能的异聚体或是同聚体 ASICs 通道发挥功能. 除参与突触传递外, 就构成 ASICs 的亚基而言, 其功能也存在着差异. 下面对各亚基的功能进行概述.

ASIC1a: 与其他 ASIC 亚基比, ASIC1a 对 Ca^{2+} 有着更高的通透性. 因此, ASIC1a 在中枢神经系统的很多功能都和它对钙离子的通透性相关^[13]. ASIC1a 基因敲除的动物缺乏对恐惧刺激的线索和条件反应, 其基本的恐惧感觉消失^[14]; 利用基因敲除的动物模型发现, ASIC1a 对突触的可塑性有着重要的作用, 提示其功能可能和学习记忆相关^[15]; 更为重要的是, 我们课题组和国内外实验室用不同的方法相继证实, ASICs 不仅可以单独介导细胞缺血后损伤^[13, 16, 17], 而且还可以作为谷氨酸受体下游信号通路的一部分, 被谷氨酸受体激活的钙调素依赖的蛋白激酶 II 所磷酸化, 并可以进一步放大 ASICs 的细胞毒效应^[18].

ASIC1b: 在感觉神经元中有大量的表达, 它被认为在酸中毒所致疼痛的传导中发挥重要的作用^[1].

ASIC2a: 在哺乳动物的整个中枢神经系统都有表达. 在外周神经元中, 它作为伤害性感觉的受体, 在炎症、缺血和组织酸中毒等病理变化中起作用. 在中枢, 与脑缺血的病理活动密切相关. 蛋白质印迹表明, 短暂的全大脑缺血能诱导 ASIC2a 表达上调; 免疫组化分析发现, ASIC2a 表达的增多主要发生在中枢神经元的海马和皮质区内. 该结果提示, ASIC2a 在大脑的缺血反应中发挥着重要的作用^[19].

ASIC2b: ASIC2b 在中枢神经系统中也有分布, 但是其功能还不清楚. 在匹鲁卡品所致的癫痫模型中, 神经元由于过度兴奋会导致酸中毒. 研究发现, ASIC2b mRNA 水平在海马神经元以及 ASIC1a mRNA 水平 CA1~2 区域有明显的降低,

在用地西洋和苯巴比妥提前注射以保护神经细胞死亡的模型中这些降低仍然明显. 提示在 ASIC1a 和 ASIC2b 构成的 ASIC 通道, 在癫痫和保护神经元损伤等病理活动中发挥着重要的作用^[20].

ASIC3: 主要在感觉神经元和对酸敏感的疼痛神经元中表达. 对 ASIC3 基因敲除的小鼠中所作的疼痛实验表明, 基因变异的小鼠是健康的并且对一般感觉刺激的反应都是正常的. 在疼痛感觉的行为学评价中, 不含 ASIC3 的小鼠对中高强度的疼痛刺激反应潜伏期缩短. 提示 ASIC3 参与调节了中高强度的疼痛反应^[21]. 在对心肌感觉传入神经的研究表明, 同聚体 ASIC3 介导了其中的 H⁺ 诱导的电流, 可能在心绞痛、胸痛中起着重要的作用.

ASIC4: ASIC4 单独构成不了酸感受离子通道, 且自身失活, 必须和其他亚基共同形成通道. 其功能有待研究.

3 对 ASICs 的调节及影响因素

ASICs 通道在细胞外 pH 值下降的瞬间被诱发开放. 临床上常用的利尿药胺氯吡咪可以特异性地阻断该电流. 除蜘蛛毒素可以选择性地阻断 ASIC1a 电流外, 其他亚型的 ASIC 通道电流还没有特异性强的阻断剂. 关于 ASIC 通道蛋白作用位点以及一些调节因素的具体作用机制目前还不很清楚. 根据目前的研究, 该通道电流除可以受到细胞环境温度的影响外, 它还受到其他一些因素的调节.

3.1 非甾体类抗炎药

非甾体类抗炎药如阿司匹林, 既可以抑制 ASIC 电流, 又可以抑制 ASIC 在伤害性感受器的表达, 其作用的强度和效能都比以前认为的作用靶点环氧酶高, 因此 ASIC 很有可能是非甾体类抗炎药作用的新靶点和新机制^[22].

3.2 肽类物质与蛋白激酶 PKC 的激活剂

神经肽 FF 和 FMRF 肽可以对 ASICs 进行调控. 其机制可能为, 一方面, 这些肽类物质可以减慢同聚体 ASICs 通道的失活而使之产生较大的稳态电流, 另外它们可以上调异聚体 ASIC 基因的表达. 考虑到 ASIC 电流在酸引起的痛觉中的作用, 而组织炎症又可以诱导神经肽 FF 的释放, 因此神经肽类物质对 ASICs 的调控, 对于 ASICs 在痛觉的功能中可能具有重要的意义^[23]. 另外, 作为一种 PKC 调节剂的寡肽片段 CFTR, 可以使 ASIC1a/2a 共表达的 ASIC 通道上调, CFTR 还能使 ASIC1a/2a 通道细胞外液 Na⁺ 的表观平衡解离常数

明显增加. 虽然 CFTR 本身对 pH 激活 ASIC1a/2a 没有影响, 但是通过改变细胞外 Na⁺ 的相互作用 CFTR 有增大 ASIC1a/2a 作用^[24].

ASIC2a 电流可以被 PKC 的激活剂 OAG 增强约 30%左右, 当 PDZ 域的蛋白 PICK-1(本身可以与 C 激酶作用)与其共同作用时, 电流的幅度增加 3 倍左右^[25]. 而在 PICK-1 调节 ASIC3 等亚基的过程, 同时也需要 ASIC2b 亚基的调节和参与.

3.3 金属阳离子

细胞外液中的 Ca²⁺、Zn²⁺、Mg²⁺ 和一些多价离子能使 ASIC1a 和 ASIC1b 的失敏值偏向更酸, 其结果可能使 ASIC 在静息状态下更加稳定^[26]. ASICs 与双价或者多价阳离子的作用可能发挥着拓展 ASICs 作为 H⁺ 感受器动力学范围的作用^[27]. 而 Ni²⁺ 的作用可能为结合 ASICs 的孔道开口处, 从而减少通道开放的几率^[28]. 另外, Pb²⁺ 对 ASIC1a 也具有明显的阻断作用, 并且 ASIC1a 可能是其作用于神经系统的分子靶标^[29].

3.4 亚基间的相互调节

除此之外, ASICs 各个亚基之间也可能存在着相互调节作用, 即 ASICs 通道不同亚基形成杂合后, 可能会导致亚基动力学特征的改变. 另外, 一个亚基表达的上调或是下调, 都可能影响到 ASICs 通道电流的开放大小^[30].

4 结语和展望

综上所述, ASICs 通道生物学特性的研究已经取得了长足的进展, 并具有重要的意义: ASICs 参与了多种生理和病理生理过程, 为寻找镇痛、神经元保护和增强学习记忆的药物, 尤其是为治疗脑神经元缺血损伤提供了新的思路; 另一方面, 对 ASICs 的调节, 还可以避免直接作用于一些重要的已知受体如 NMDA 受体所引起的严重后果. 因此, ASICs 正成为一个有潜力的热门的药理学新靶标.

但是, ASICs 的开发和临床应用仍存在一些瓶颈问题, 如缺乏特异性的亚基阻断剂, ASICs 亚基在组织构成中存在着多样性和复杂性, 以及构成 ASICs 的亚基相互之间的关系仍不清楚等等. 因此, 我们认为, 有必要运用分子生物学技术中的一些新技术新方法, 如反义核酸技术、转基因技术以及 RNA 干涉技术和电生理药理学手段的结合运用, 对这些现实问题进行探索, 早日开拓它们在药理学中的运用.

参 考 文 献

- 1 Krishtal O. The ASICs: Signaling molecules? modulators? Trends in Neurosci, 2003, **26** (9): 477~483
- 2 Weng X C, Zheng J Q, Li J, *et al.* Two types of acid sensing ion channels expressed in cultured hippocampal neurons in rat. Neuroscience Research, 2004, **50** (4): 493~499
- 3 Anzai N, Deval E, Schaefer L, *et al.* The multivalent PDZ domain-containing protein CIPP is a partner of acid-sensing ion channel 3 in sensory neurons. J Biol Chem, 2002, **277** (19): 16655~16661
- 4 Rosa D A, Zhang P, Shao D R, *et al.* Functional implications of the localization and activity of acid-sensitive channels in rat peripheral nervous system. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, **99** (4): 2326~2331
- 5 Lin W H, Ogura T, Kinnamon S C. Acid-activated cation currents in rat vallate taste receptor cells. J Neurophysiol, 2002, **88** (1): 133~141
- 6 Ugawa S, Yamamoto T, Ueda T, *et al.* Amiloride-insensitive currents of the acid-sensing ion channel-2a (ASIC2a)/ASIC2b heteromeric sour-taste receptor channel. J Neurosci, 2003, **23** (9): 3616~3622
- 7 Richter T A, Dvoryanchikov G A, Roper S D, *et al.* Acid-sensing ion channel-2 is not necessary for sour taste in mice. J Neurosci, 2004, **24** (16): 4088~4091
- 8 Jahr H, Van Driel M, Van Osch G J, *et al.* Identification of acid-sensing ion channels in bone. Biochem Biophys Res Commun, 2005, **337** (1): 349~354
- 9 Mercado F, Lopez I A, Acuna D, *et al.* Acid-sensing ionic channels in the rat vestibular endorgans and ganglia. J Neurophysiol, 2006, **96** (3): 1615~1624
- 10 Zhang P, Canessa C M. Single channel properties of rat acid-sensitive ion channel-1, -2a, and -3 expressed in xenopus oocytes. J Gen Physiol, 2002, **20** (4): 553~566
- 11 Chu X P, Miesch J, Johnson M, *et al.* Proton-gated channels in PC12 cells. J Neurophysiol, 2002, **87** (5): 2555~2561
- 12 Ugawa S, Ueda T, Ishida Y, *et al.* Amiloride-blockable acid-sensing ion channels are leading acid sensors expressed in human nociceptors. J Clin Invest, 2002, **110** (8): 1185~1190
- 13 Xiong Z G, Chu X P, Simon R P. Ca²⁺-permeable acid-sensing ion channels and ischemic brain injury. J Membrane Biol, 2006, **209** (1): 59~68
- 14 Wemmie J A, Askwith C C, Lamani E, *et al.* Acid-sensing ion channel 1 is localized in brain regions with high synaptic density and contributes to fear conditioning. J Neurosci, 2003, **23** (13): 5496~5502
- 15 Wemmie J A, Chen J G, Askwith C C, *et al.* The acid-activated ion channel ASIC contributes to synaptic plasticity, learning, and memory. Neuron, 2002, **34** (25): 463~477
- 16 Xiong Z G, Zhu X M, Chu X P, *et al.* Neuroprotection in ischemia: blocking calcium-permeable acid-sensing ion channels. Cell, 2004, **118** (6): 687~698
- 17 Weng X C, Zheng J Q, Jin Q E, *et al.* Involvement of ASIC1a in apoptosis and cell death induced by extracellular acidosis. Acta Pharmacol Sin, 2006, **1** (suppl): 186
- 18 Gao J, Duan B, Wang D G, *et al.* Coupling between NMDA receptor and acid-sensing ion channel contributes to ischemic neuronal death. Neuron, 2005, **48** (4): 635~646
- 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
- 21 Chen C C, Zimmer A, Sun W H, *et al.* A role for ASIC3 in the modulation of high-intensity pain stimuli. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, **99** (13): 8992~8997
- 22 Voilley N, Weille J, Mamet J, *et al.* Anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors. J Neurosci, 2001, **21**(20): 8026~8033
- 23 Catarsi S, Babinski K, Seguela P. Selective modulation of heteromeric ASIC proton2 gated channels by neuropeptide FF. Neuropharmacology, 2001, **41** (5): 592~600
- 24 Ji H L, Jovov B, Fu J, *et al.* Up-regulation of acid-gated Na⁺ channels (ASICs) by cystic fibrosis transmembrane conductance regulator co-expression in xenopus oocytes. J Biol Chem, 2002, **277** (10): 8395~8405
- 25 Baron A, Deval E, Salinas M, *et al.* Protein kinase C stimulates the acid-sensing ion channel ASIC2a via the PDZ domain-containing protein PICK1. J Biol Chem, 2002, **277** (52): 50463~50468
- 26 Gao J, Wu L J, Xu L, *et al.* Properties of the proton-evoked currents and their modulation by Ca²⁺ and Zn²⁺ in the acutely dissociated hippocampus CA1 neurons. Brain Res, 2004, **1017** (1~2): 197~207
- 27 Babini E, Paukert M, Geisler H S, *et al.* Alternative splicing and interaction with Di- and polyvalent cations control the dynamic range of acid-sensing ion channel 1 (ASIC1). J Biol Chem, 2002, **277** (44): 41597~41603
- 28 Sheng S H, Perry C J, Kleyma T R. External nickel inhibits epithelial sodium channel by binding to histidine residues within the extracellular domains of α and γ subunits and reducing channel open probability. J Biol Chem, 2002, **277** (51): 50098~50111
- 29 Wang W, Duan B, Xu H, *et al.* Calcium-permeable acid-sensing ion channel is a molecular target of the neurotoxic metal ion lead. J Biol Chem, 2006, **281** (5): 2497~2505
- 30 Deval E, Salinas M, Baron A, *et al.* ASIC2b-dependent regulation of ASIC3, an essential acid sensing ion channel subunit in sensory neurons, via the partner protein PICK-1. J Biol Chem, 2004, **279** (19): 19531~19539

Biological Characteristics of Acid Sensing Ion Channels (ASICs) and Their Modulations*

WENG Xie-Chuan**, ZHENG Jian-Quan, PENG Shuang-Qing, LI Jin

(Institute of Pharmacology & Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: ASICs are H⁺-gated novel cation ion channels, which belong to the epithelial sodium channels (NaC/DEG) superfamily. As recent studies focus, ASICs are expected to be pharmacological targets on protecting the neuron from ischemia and damage, improving the ability of memory and study, curing epilepsy and analgesia. It is not until the most recentness that the subunits of ASICs have been cloned. Now, researchers have paid more attention to the distribution, expression, function and modulation of ASICs in the organism.

Key words acid sensing ion channel (ASIC), biological characteristic, sodium channel, function, modulation

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30472019, 30500620) and The National Key Basic Research and Development Program of China (2003CB515406).

**Corresponding author . Tel: 86-10-66930754, E-mail: wengxc2002@yahoo.com.cn

Received: July 19, 2006 Accepted: August 3, 2006