

钙调神经磷酸酶调节因子 RCANs 的研究进展*

涂玲辉 刘海朋 骆 静**

(北京师范大学生命科学学院, 北京市基因工程药物及生物技术重点实验室, 北京 100875)

摘要 钙调神经磷酸酶(calcineurin, CN)作为机体中的一种丝/苏氨酸磷酸酶, 在关键的生物学过程中发挥着重要作用. RCANs (regulators of calcineurin) 是 CN 的一类内源调节因子, 其家族成员在细胞中能够通过结构与 CN 的相互结合, 起到调节 CN 活性的作用. 而近来研究发现, 该调节因子还可参与到 CN-NFAT 信号通路中发挥功能, 从而与 CN 依赖的生理和病理过程的调控密切相关. 因此, 有必要对 RCAN 基因、RCANs 蛋白与 CN 的相互作用以及该家族成员在病理条件下的重要功能作一个较为全面的综述, 这些基础研究工作的进展将有助于为寻找新的疾病治疗方法和药物开辟新的途径.

关键词 钙调神经磷酸酶, RCAN 基因, RCANs, tau 蛋白, 阿尔茨海默氏病

学科分类号 Q71, R74

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00287

钙调神经磷酸酶(calcineurin, CN)是细胞信号转导通路中的一种丝/苏氨酸磷酸酶, 其活力的调节在阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease, AD)、免疫等方面发挥着重要的作用, 一直以来得到科学家的广泛关注. RCANs(regulators of calcineurin)是 2007 年刚被统一命名的、CN 活力的内源调节因子, 其家族成员能够调节细胞内 CN 活性, 从而和 CN 依赖的生理和病理过程密切相关.

1 RCAN 及其表达产物 RCAN 蛋白

RCAN 基因在过去的 10 多年内被不同的研究者赋予了 20 多种名字, 比如最初发现它是位于人 21 号染色体上的唐氏综合症候选区域的基因(down syndrome candidate region 1 gene, *DSCR1*)或者细胞适应氧化应激而产生的基因(a gene induced during cell adaptation to oxidative stress, *Adapt78*)等, 而它与 CN 之间的关系是近年来才被逐渐阐明的. 2007 年, 30 多位学者联合将其统一定义成了 RCAN 基因^[1], 并得到了人类和小鼠基因命名委员会的认可^[2]. 人 21 号染色体上的 *DSCR1* 基因被命名为 *RCAN1*, 6 号染色体上的同源基因称为 *RCAN2*, 1 号染色体上的称为 *RCAN3*^[3], 在酵母和真菌物种中被称为 *RCN1*. 到目前为止, 科学家们对 *RCAN1* 的研究最为系统和深入, 随后我们也将对其进行着重介绍.

RCAN1 位于 *DSCR* 外的 q22.12 区域, 其基因组有 7 个外显子, 被 6 个内含子隔开, 其中外显子 1~4 可被选择性剪切产生不同的 mRNA 转录产物. 绝大多数的 *RCAN1* mRNA 异构体都是以外显子 1 或 4 起始. 其中转录产物 1 有两个潜在的翻译起始位点, 可翻译生成两种不同的 RCAN1-1 蛋白, 分别称作 RCAN1-1S 和 RCAN1-1L, 它们主要在成年人的脑、心脏、骨骼肌和胰腺等组织中表达. 在外显子 4 靠近 5'端的区域有一个由 15 个与 T 细胞核转录因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT)结合位点构成的结合簇, 可以作为选择性的、受 CN 应答的启动子, 开始转录产物 4 的生成, 即 RCAN1-4^[4-7], 主要在心脏、肝脏、肌肉等组织中高表达(图 1). 此外, RCAN1-1 和 RCAN1-4 都含有外显子 5、6、7 所共同编码的 168 个氨基酸. 值得提醒的是, RCAN1 蛋白曾经也有过很多名字, 如 CN 抑制蛋白 1(calcipressin 1)、CN 结合蛋白 1(calcineurin binding protein 1, CBP1)、肌细胞富集的 CN 相互作用蛋白 1(myocyte-enriched calcineurin interacting protein 1, MCIP1)等.

* 国家自然科学基金面上项目(30772558)和国家基础科学人才培养基金“本科能力训练”资助项目(J0630642).

** 通讯联系人.

Tel: 010-58808197, E-mail: luojing@bnu.edu.cn

收稿日期: 2009-07-27, 接受日期: 2009-09-03

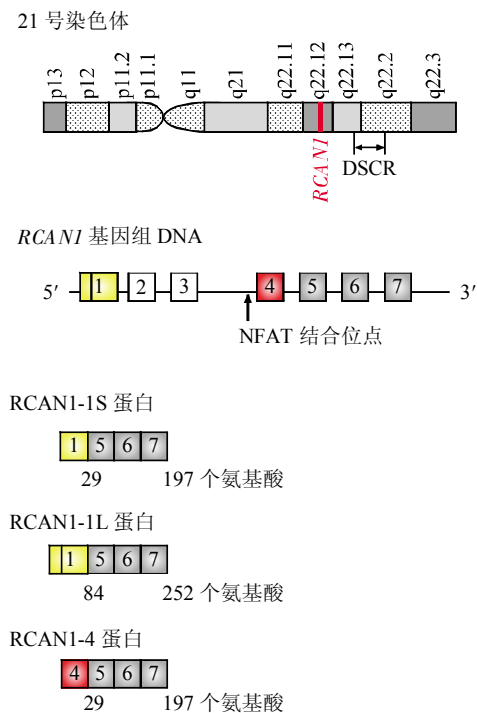


Fig. 1 Structure of the *RCAN1* gene and *RCAN1* protein^[7]

图 1 *RCAN1* 基因和 *RCAN1* 蛋白的结构图^[7]

RCAN1 基因位于人第 21 号染色体的 q22.12 区域, 其基因组包含 7 个外显子(在图中分别用 1~7 表示), 在其外显子 4 的 5' 端有一个 NFAT 结合位点. *RCAN1* 基因通过选择性剪切可以生成不同的蛋白质产物, 目前在人脑中已发现的 3 种蛋白质产物分别为 *RCAN1-1S*、*RCAN1-1L* 和 *RCAN1-4*.

2 RCAN1 与 CN 的相互作用

2.1 *RCAN1* 的早期研究

早在 1997 年, mRNA 差异研究发现: 过氧化氢(H_2O_2)的预孵育诱导了中国仓鼠卵巢细胞 HA-1 中一个基因的 mRNA 表达, 并将其命名为 *Adapts78*^[8]. 随后 Western blot 实验证明, H_2O_2 引起的氧化应激(oxidative stress, OS)和 Ca^{2+} 确实能够引起该基因蛋白质产物的表达^[9]. 进一步的实验将 *Adapt78* cDNA 稳转入 HA-1 细胞后, 与对照组细胞相比, 发现稳转后的细胞更能够对抗 Ca^{2+} 和 H_2O_2 引起的细胞毒性, 这说明该基因具有调控 Cu/Zn 超氧化物歧化酶基因(*SOD1*)表达的功能^[10-13]. 由此, 人们通过早期的研究推断出 *RCAN1* 的急性表达可能有助于细胞抵抗应激所造成的损伤. 但是, 在这些研究中均没有提到 *RCAN1* 与 CN 的调节关系.

2.2 *RCAN1* 对 CN 的抑制作用

到了 2000 年左右, 人们对 *RCANs* 的认识有了突破性的进展, 那就是发现了 *RCAN1* 可以结合并抑制 CN 的活性^[14-18]. 对 *RCAN1* 结构的研究发现, 它与 CN 结合的部位主要是由其外显子 7 编码的一个 PxIxxT 结构域, 这个结构域类似于 NFAT 上和 CN 相互作用的序列 PxIxIT^[19-22]. 此外, 利用融合表达蛋白的方法, 在外显子 7 上还发现了 ELHA 结构域, 虽然 ELHA 能够结合 CN, 但其需要更为严格的氨基酸环境才能起到抑制 CN 活性的作用, 比如 CIC 结构域的支持^[23]. 而外显子 6 编码的、高度保守的丝/苏氨酸结构域(有时也被称为 FLISPP 结构域)也可以和 CN 结合, 当该区域被磷酸化时, 其结合并抑制 CN 活力的能力会增强, 但同时蛋白质产物降解的速度也会加快, 表明该区域的磷酸化状态可能与蛋白质的半衰期有关^[24-26](图 2).

CN 是目前已知的唯一受 Ca^{2+} 和钙调素(calmodulin, CaM)激活的磷酸酶, 由催化亚基 A (CNA)和调节亚基 B(CNB)组成. CNA 包含三个结构域: 催化区域, B 亚基结合区域和自抑制区域(auto-inhibitory, AI). 当不存在 Ca^{2+} 时, AI 区域会阻断 CNA 催化亚基的活性位点, CN 是没有活性的; 但当有 Ca^{2+} 时, CN 会与 Ca^{2+} /CaM 结合形成复合物, 引起构象的改变, 使 AI 发生移位, 暴露出活性位点, 激活 CN^[21].

激活的 CN 可形成 CN/NFAT 信号通路, 即在 CN 作用下, 胞浆中的 NFAT(cytoplasmic NFAT, NFATc)脱磷酸后进入细胞核(nuclear NFAT, NFATn), 结合到某些与免疫、神经、心血管、内分泌等系统相关基因的启动子和增强子区域, 启动这些基因的表达, 这其中就包括了 *RCAN1*. 而 *RCAN1* 的表达反过来又可以抑制 CN 活力, 形成负反馈调节通路. 目前这一调节通路得到了越来越多的实验证实^[27].

人们推测 CN 与 Ca^{2+} /CaM 结合并暴露出活性中心的过程, 可能促进了 CN 与 *RCAN1* 的结合, 因此 *RCAN1* 优先与 CN 的活性形式结合. 通过对 CNA 和 *RCAN1* 的 C 端关键氨基酸残基的突变实验发现, 在 CN-NFAT 信号通路中, *RCAN1* 不仅仅表现为抑制 CN 的酶活力, 同时它还还能够与 NFAT 竞争性地结合 CN 上的同一锚定位点. 这种底物 NFAT 和调节剂 *RCAN1* 之间的竞争关系也构成了 CN 信号通路调节机理中的重要部分之一^[28].

我们知道, 经典的免疫抑制剂环孢菌素 A

(cyclosporine A, CsA)和 FK506 就是通过 CN/NFAT 信号通路来发挥抑制免疫相关基因表达作用的. 但这两种药物都会强烈地抑制细胞内 CN 的活力, 因此不可避免存在很大的毒副作用^[29], 而寻找高效且低毒的免疫抑制剂成为了生物医学界中的一大研究热点. 基于这个原因以及对 RCAN1 结构和功能特点的了解, 科学家们鉴定出了 RCAN1 上能够抑制 CN/NFAT 信号通路, 却并不影响 CN 活力的最短片段, 这将有助于在今后的研究中开发更加高效低毒的免疫抑制剂^[30].

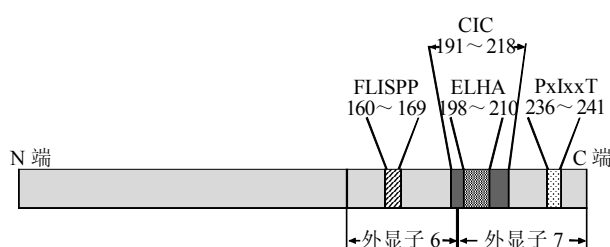


Fig. 2 Schematic representation of the conserved motifs of RCAN1-1L protein interacting with CN^[21]

图 2 与 CN 相互作用的 RCAN1-1L 结构域示意图^[21]

FLISPP: 一个由外显子 6 编码的、高度保守的、与 CN 相互作用的结构域, 位于 RCAN1-1L 的第 160~169 位氨基酸残基, 全称为 FLISPPxSPP(Phe-Leu-Ile-Ser-Pro-Pro-Xaa-Ser-Pro-Pro). ELHA 结构域: RCAN1-1L 的第 198~210 位氨基酸残基(Lys-Tyr-Glu-Leu-His-Ala-Xaa-Thr-Xaa-Xaa-Thr-Pro-Ser). CIC: Calcineurin-inhibitor CALP1 结构域, 由外显子 6 和 7 共同编码的一个保守的、与 CN 相互作用的结构域, 位于 RCAN1-1L 的第 191~218 位氨基酸残基. PxIxxT: 一个由外显子 7 编码、保守、与 CN 相互作用的结构域, 位于 RCAN1-1L 的第 236~241 位氨基酸残基.

2.3 RCAN1 对 CN 信号通路的调节作用

既然 RCAN1 可以抑制 CN 活性, 那为什么在最新的定义中并不称其为 CN 的抑制因子, 而是采用调节因子来命名呢? 这是因为在 2003 年以后, 人们越来越多地发现: RCAN1 并不总是起到抑制 CN 的作用, 有时它的存在似乎是维持 CN 通路所必需的. 在被敲除了 *RCAN1* 基因的小鼠身上, 各种应激反应会导致小鼠的心肌肥大, 这个过程中 RCAN1 除了会抑制 CN 外, 当发生压力过载或慢性肾上腺素能刺激时, RCAN1 也会表现出推进 CN 信号通路的作用^[31]. 另外, Sanna 等的实验也表明, 在酵母的 *Rcn1* 突变型中, 会发生 CN 信号通路受损的情况. 而 RCAN1 对 CN 的这种双重作用在新生隐球菌和其他哺乳动物身上也都得到了证实^[32-34].

那么如何来理解这些看上去有些矛盾的实验结果呢? RCAN1 在 CN 信号通路中的双重作用又该如何解释呢? Vega 等^[31]最先提出了 RCAN1 是 CN 分子伴侣的假设, 得到了很多研究者的认可. 随后科学家们不断对该假设衍生出来的模型进行了补充、验证和完善^[35-37], 形成了目前的 CN/NFAT/RCAN1 的调节通路. 该模型中, 正常的 RCAN1 能够通过结合 CN, 使其处于非活性的状态(闭塞状态). 但当 RCAN1 的保守区域 SP 被糖原合成酶 3(glycogen synthase kinase 3, GSK-3)磷酸化以后, RCAN1 便会从 CN 上脱落下来, 随后发生降解^[38-39], 最终激活 CN(图 3).

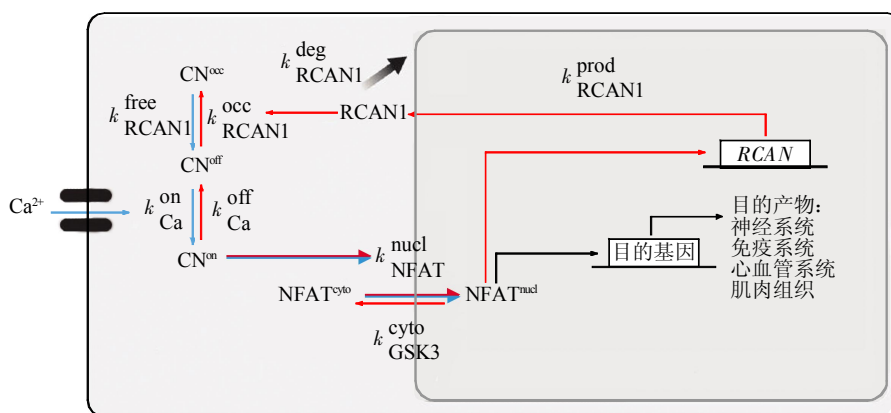


Fig. 3 The CN-NFAT-RCAN1 regulatory circuit^[31]

图 3 CN-NFAT-RCAN1 信号通路示意图^[31]

k: 反应常数; occ: Occluded, 表示处于闭塞即非活性状态的 CN; deg: Degradation, 蛋白质降解; cyto: Cytoplasm, 细胞质; nucl: Nucleus, 细胞核; prod: Production, 蛋白质生成; GSK3: Glycogen synthase kinase 3, 糖原合成酶 3.

当以 RCAN1 为诱饵进行酵母双杂交实验时, 人们发现 RCAN1 能够与 CN、转化生长因子 β 激活的激酶 1 (TGF beta-activated kinase 1, TAK1)、衔接蛋白 1 (TAK binding protein 1, TAB1) 和衔接蛋白 2 (TAK binding protein 2, TAB2) 共同构成信号转导通路中一个重要的控制节点. 首先是 TAK1-TAB1-TAB2 选择性地磷酸化 RCAN1 的第 94 位和 136 位丝氨酸, 使 RCAN1 从 CN 上脱落, 处于闭塞状态的 CN 被大量激活, 促进了 CN-NFAT 信号通路进程以及 NFATc 的核转位、NFAT 的转录激活和心肌细胞的肥大生长等过程. 反过来, CN 的激活又会作用于 TAK1 和 TAB1 的脱磷酸化, 进而削弱信号通路的进程^[40].

此外, RCAN1 还可以协助 CN 定位到细胞内的底物位置, 起到锚定底物的作用. 既然 RCAN1 是 CN 生物合成及再循环过程中的分子伴侣, 那它就必然存在着与 CN 结合、磷酸化、泛素化和被蛋白酶体降解等一系列生命活动^[41-42]. 有研究表明, RCAN1 mRNA 的半衰期大约是 2 h, 蛋白质的半衰期大约是 6 h, 蛋白质的降解是受分子伴侣调节的自噬和泛素蛋白酶体途径调节的. 如果 RCAN1 的这些降解途径受阻, 可能会引起与 CN 有关的一系列病理情况.

3 RCAN1 与疾病的关系

3.1 RCAN1 与 AD

AD 是一种神经退行性疾病, 由于其严重的认知障碍给社会和家庭带来了沉重的负担. AD 病人的典型病理特征是中枢神经系统出现大量的老年斑 (senile plaque, SP) 和神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFT). 研究表明, NFT 的主要组成成分是过度磷酸化的微管相关蛋白 tau, 这种 tau 蛋白以聚集的成对螺旋丝 (paired helical filaments, PHF) 结构存在. 而 CN 在调控 tau 蛋白磷酸化状态中起着十分重要的作用^[43].

从 AD 病人尸检的结果显示, 其脑中 CN 活力水平要比同年龄对照组明显偏低. 我们实验室的研究也表明, 将 CN 的抑制剂 CsA 或者 FK506 注射进小鼠脑室内和用于孵育神经瘤细胞株 SY5Y, 均可以引起 CN 活力的下降和 tau 的过度磷酸化^[44-45]. 而将 CN 及其高活性突变体转入细胞, 则能使 tau 的过磷酸化程度得到不同程度的缓解^[46]. 由此我们可以看出, AD 病人脑中 CN 活力的提高将会有助于 tau 的去磷酸化, 进一步恢复其生物学活性, 从

而达到治疗 AD 的目的.

Ermak 等^[47]认为, AD 病人脑中 CN 活力的下降是由于 RCAN1 的长期过量表达或者降解受阻造成的. RCAN1 和 CN 在脑中表达的时间和区域具有同步性, 它们均主要在人、鼠脑组织的神经元中表达, 两者在脑的海马区中均具有最高表达量, 这说明两者可能在生物体中具有协同作用. 利用免疫组化和原位杂交技术发现, AD 病人脑组织中 RCAN1 mRNA 水平是同年龄组正常人脑中的 3 倍之多. 蛋白质印迹显示 RCAN1-1L 是过表达的, 它的量比 RCAN1-4 多一倍, 而 RCAN1-1S 的表达量很少^[48-49]. 通过以上实验结果不难看出, RCAN1 引起 CN 活性抑制, 最终导致 AD 病理特征的发生.

唐氏综合症 (Down syndrome, DS) 病人在 30 岁以后会出现记忆障碍等类似老年痴呆的症状. RCAN1 基因最早被称为 DSCR 基因, 所以一些有关 DS 的研究结果也能说明 RCAN1 与 AD 的关系. 比如利用敲除 RCAN1 的小鼠证明了该基因确实在学习记忆和行为学方面起着重要的作用^[50]; RCAN1 基因功能缺失型和过表达型的果蝇都出现了学习缺陷^[51]; RCAN1 的表达会引起神经元细胞出现微管依赖的、类似于聚集体的包涵体, 导致神经元突触素的减少, 引发 DS 的神经病理特征^[52]; RCAN1 在调节神经细胞胞吐及囊泡融合方面具有关键性作用, 进而影响神经递质释放等与神经退行性疾病相关的病理现象^[53]. 这些实验结果都揭示了 RCAN1 在 AD 的记忆缺陷、突触受损等病理特征中扮演着十分重要的角色.

另外, 我们知道氧化应激 (OS) 的概念最早来源于人们对衰老的认识, 当生物大分子长期受到 OS 时, 会引起组织细胞损伤, 继而引起机体衰老. RCAN1 基因敲除或者过表达的神经元细胞研究发现, 在 H_2O_2 诱导的 OS 状态下, RCAN1 表达量的多少会直接影响细胞对 OS 的敏感性, 这是一个非常有害的因素^[54], 在神经退行性疾病中具有不可忽视的意义.

3.2 RCAN1 与其他疾病

除 AD 外, RCAN1 还同 CN 参与的其他疾病具有密不可分的关系^[55-56], 例如亨廷顿舞蹈病^[57]、脑缺血、中风、心脏和骨骼肌肥大^[58]、免疫系统失常和免疫抑制等 (表 1). 通过表 1 可以看出, 这些推断仅仅是建立在 RCAN1 参与 CN/NFAT 通路和 RCAN1 是 CN 抑制剂的基础之上的, RCAN1 究竟在这些疾病里是如何起作用的还需要更多更深入的研究.

Table 1 RCAN1 in disease^[48]
表 1 RCAN1 与部分相关疾病的关系^[48]

疾病	可能涉及到的机制
阿尔茨海默氏病	RCAN1 抑制 CN, 引起 tau 的过度磷酸化, 从而容易形成 PHF 和 NFT, 同时 RCAN1 对 CN 的抑制还会导致钙蛋白酶对 tau 的水解受阻.
心肌和骨骼肌肥大	RCAN1 抑制 CN 对 NFAT-3 的脱磷酸作用, 而磷酸化的 NFAT 是不能进入细胞核内激活基因表达的, 其中就包括有关肥大反应的基因表达受阻.
脑缺血、中风	OS 诱导 RCAN1 的表达, 这会抑制 CN 依赖的一氧化氮合酶的激活和随后的 N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)介导的神经毒性. RCAN1 还抑制促凋亡基因 Bad 的脱磷酸, 而脱磷酸的 Bad 可从胞浆进入线粒体, 替代 bax/bak 复合物, 引起细胞凋亡.
免疫抑制、自身免疫疾病	RCAN1 抑制 NFAT-1 和 NFAT-4 的脱磷酸. NFAT-1 和 NFAT-4 涉及免疫反应的基因表达, 如白介素 2(IL-2)、干扰素 γ 等基因的表达, 其中 IL-2 对于 T 细胞的增殖和分化极为重要, 是活化 T 细胞进入增殖和分化的重要因素. 所以 RCAN1 会导致 T 细胞活化受阻, 相关基因的表达减少.

4 展 望

我们实验室 1986 年最早在国内开始研究 CN 的结构与功能^[59-61]. 鉴于 CN 在抑制神经纤维缠结方面发挥的重要作用, 我们进行了以 CN 为靶点的抗 AD 药物筛选和相应药物先导结构的发现与优化工作, 得到了 973 项目和国家自然科学基金的大力支持, 取得了一定的进展^[62-65]. 通过以上介绍, 我们不难看出 RCAN1 作为 CN 活性的内源调节因子在神经退行性疾病中起着非常重要的作用, 对它的深入研究将有助于寻找新的疾病治疗方法和相应的药物.

致谢 感谢北京师范大学生命科学学院魏群教授在钙调神经磷酸酶结构与功能方面的基础研究工作, 以及对本课题的支持与建议; 感谢我院 06 级生物技术专业本科生杨薇、汪会喆和包欣同学对本文的帮助.

参 考 文 献

- [1] Davies K J A, Ermak G, Rothermel B A, *et al.* Renaming the *DSCR1/Adapt78* gene family as *RCAN*: regulators of calcineurin. *FASEB J*, 2007, **21**(12): 3023-3028
- [2] Bult C J, Eppig J T, Kadin J A, *et al.* The mouse genome database (MGD): mouse biology and model systems. *Nucleic Acids Res*, 2008, **36**(Supplement 1): D724-D728
- [3] Facchin F, Canaider S, Vitale L, *et al.* Identification and analysis of human RCAN3 (DSCR1L2) mRNA and protein isoforms. *Gene*, 2008, **407**(1-2): 159-168
- [4] Canellada A, Ramirez B G, Minami T, *et al.* Calcium/calcineurin signaling in primary cortical astrocyte cultures: Rcan1-4 and cyclooxygenase-2 as NFAT target genes. *Glia*, 2008, **56**(7): 709-722
- [5] Cano E, Canellada A, Minami T, *et al.* Depolarization of neural cells induces transcription of the down syndrome critical region 1 isoform 4 *via* a calcineurin/nuclear factor of activated T cells-dependent pathway. *J Biol Chem*, 2005, **280**(33): 29435-29443
- [6] Fuentes J J, Pritchard M A, Planas A M, *et al.* A new human gene from the down syndrome critical region encodes a proline-rich protein highly expressed in fetal brain and heart. *Hum Mol Genet*, 1995, **4**(10): 1935-1944
- [7] Harris C D, Ermak G, Davies K J. RCAN1-1L is overexpressed in neurons of Alzheimer's disease patients. *FEBS J*, 2007, **274**(7): 1715-1724
- [8] Crawford D R, Leahy K P, Abramova N, *et al.* Hamster *adapt78* mRNA is a down syndrome critical region homologue that is inducible by oxidative stress. *Arch Biochem Biophys*, 1997, **342**(1): 6-12
- [9] Lin H Y, Michtalik H J, Zhang S, *et al.* Oxidative and calcium stress regulate DSCR1 (Adapt78/MCIP1) protein. *Free Radic Biol Med*, 2003, **35**(5): 528-539
- [10] Ermak G, Cheadle C, Becker K G, *et al.* *DSCR1(Adapt78)* modulates expression of *SOD1*. *FASEB J*, 2004, **18**(1): 62-69
- [11] Ermak G, Harris C D, Davies K J A. The *DSCR1 (Adapt78)* isoform 1 protein calcipressin 1 inhibits calcineurin and protects against acute calcium-mediated stress damage, including transient oxidative stress. *FASEB J*, 2002, **16**(8): 814-824
- [12] Leahy K P, Crawford D R. Adapt78 protects cells against stress damage and suppresses cell growth. *Arch Biochem Biophys*, 2000, **379**(2): 221-228
- [13] Michtalik H J, Narayan A V, Bhatt N, *et al.* Multiple oxidative stress-response members of the Adapt78 family. *Free Radic. Biol. Med*, 2004, **37**(4): 454-462
- [14] Fuentes J J, Genesca L, Kingsbury T J, *et al.* DSCR1, overexpressed in down syndrome, is an inhibitor of calcineurin mediated signaling pathways. *Hum Mol Genet*, 2000, **9**(11): 1681-1690
- [15] Kingsbury T J, Cunningham K W. A conserved family of calcineurin regulators. *Genes & Dev*, 2000, **14**(13): 1595-1604
- [16] Rothermel B, Vega R B, Yang J, *et al.* A protein encoded within the down syndrome critical region is enriched in striated muscles and inhibits calcineurin signaling. *J Biol Chem*, 2000, **275**(12): 8719-8725
- [17] Strippoli P, Lenzi L, Petrini M, *et al.* A new gene family including

- DSCR1 (down syndrome candidate region 1) and ZAK1-4: characterization from yeast to human and identification of DSCR1-like 2, a novel human member (DSCR1L2). *Genomics*, 2000, **64**(3): 252–263
- [18] Yang J, Rothermel B, Vega R B. Independent signals control expression of the calcineurin inhibitory proteins MCIP1 and MCIP2 in striated muscles. *Circ Res*, 2000, **87**(12): E61–E68
- [19] Hogan P G, Chen L, Nardone J, *et al.* Transcriptional regulation by calcium, calcineurin, and NFAT. *Gene Dev*, 2003, **17**(18): 2205–2232
- [20] Rao A. Signaling to gene expression: calcium, calcineurin and NFAT. *Nat Immunol*, 2009, **10**(1): 3–5
- [21] Rodriguez A, Martinez-Martinez S, Lopez-Maderuelo M D, *et al.* A conserved docking surface on calcineurin mediates interaction with substrates and immunosuppressants. *Mol Cell*, 2009, **33**(5): 616–626
- [22] Rusnak F, Mertz P. Calcineurin: form and function. *Physiol Rev*, 2000, **80**(4): 1483–1521
- [23] Aubareda A, Mulero M C, Perez-Riba M. Functional characterization of the calcipressin 1 motif that suppresses calcineurin-mediated NFAT-dependent cytokine gene expression in human T cells. *Cell Signal*, 2006, **18**(9): 1430–1438
- [24] Chan B, Greenan G, McKeon F, *et al.* Identification of a peptide fragment of DSCR1 that competitively inhibits calcineurin activity *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(37): 13075–13080
- [25] Genesca L, Aubareda A, Fuentes J J, *et al.* Phosphorylation of calcipressin 1 increases its ability to inhibit calcineurin and decreases calcipressin half-life. *Biochem J*, 2003, **374** (pt 2): 567–575
- [26] Vega R B, Yang J, Rothermel B A, *et al.* Multiple domains of MCIP1 contribute to inhibition of calcineurin activity. *J Biol Chem*, 2002, **277**(33): 30401–30407
- [27] Pinchai N, Zachary Perfect B, Juvvadi P R, *et al.* *Aspergillus fumigatus* calcipressin CbpA is involved in hyphal growth and calcium homeostasis. *Eukaryot Cell*, 2009, **8**(4): 511–519
- [28] Martínez-Martínez S, Genesca L, Rodríguez A, *et al.* The RCAN carboxyl end mediates calcineurin docking-dependent inhibition *via* a site that dictates binding to substrates and regulators. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(15): 6117–6122
- [29] Naesens M, Kuypers D R J, Sarwal M, *et al.* Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2009, **4**(2): 481–508
- [30] Carme Mulero M, Aubareda A, Orzáez M, *et al.* Inhibiting the calcineurin-NFAT (nuclear factor of activated T cells) signaling pathway with a regulator of calcineurin-derived peptide without affecting general calcineurin phosphatase activity. *J Biol Chem*, 2009, **284**(14): 9394–9401
- [31] Vega R B, Rothermel B A, Weinheimer C J, *et al.* Dual roles of modulatory calcineurin-interacting protein 1 in cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(2): 669–674
- [32] Sanna B, Brandt E B, Kaiser R A, *et al.* Modulatory calcineurin-interacting proteins 1 and 2 function as calcineurin facilitators *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(19): 7327–7332
- [33] Fox D S, Heitman J. Calcineurin-binding protein Cbp1 directs the specificity of calcineurin-dependent hyphal elongation during mating in *Cryptococcus neoformans*. *Eukaryot Cell*, 2005, **4** (9): 1526–1538
- [34] Abbasi S, Lee J D, Su B, *et al.* Protein kinase-mediated regulation of calcineurin through the phosphorylation of modulatory calcineurin-interacting protein 1. *J Biol Chem*, 2006, **281** (12): 7717–7726
- [35] Arron J R, Winslow M M, Polleri A, *et al.* NFAT dysregulation by increased dosage of DSCR1 and DYRK1A on chromosome 21. *Nature*, 2006, **441**(7093): 595–600
- [36] Graef I A, Crabtree G R. Bursting into the nucleus. *Sci Signal*, 2008, **1**(51): pe54
- [37] Norenberg M D, Rao K V. The mitochondrial permeability transition in neurologic disease. *Neurochem Int*, 2007, **50** (7–8): 983–997
- [38] Ermak G, Harris C D, Battocchio D, *et al.* RCAN1 (DSCR1 or Adapt78) stimulates expression of GSK-3 β . *FEBS J*, 2006, **273**(10): 2100–2109
- [39] Hilioti Z, Gallagher D A, Low-Nam S T, *et al.* GSK-3 kinases enhance calcineurin signaling by phosphorylation of RCNs. *Gene Dev*, 2004, **18**(1): 35–47
- [40] Liu Q, Busby J C, Molkenin J D. Interaction between TAK1-TAB1-TAB2 and RCAN1-calcineurin defines a signalling nodal control point. *Nat Cell Biol*, 2009, **11**(2): 154–161
- [41] Liu H, Wang P, Song W H, *et al.* Degradation of regulator of calcineurin 1 (RCAN1) is mediated by both chaperone-mediated autophagy and ubiquitin proteasome pathways. *FASEB J*, 2009, **23**(10): 3383–3392
- [42] Mehta S, Li H M, Hogan P G, *et al.* Domain architecture of the regulators of calcineurin (RCANs) and identification of a divergent RCAN in Yeast. *Mol Cell Biol*, 2009, **29**(10): 2777–2793
- [43] Kayyali U S, Zhang W, Yee A G, *et al.* Cytoskeletal change in the brains of mice lacking calcineurin A α . *J Neurochem*, 1997, **68**(4): 1668–1678
- [44] Yu D Y, Luo J, Bu F, *et al.* Inhibition of calcineurin by infusion of CsA causes hyperphosphorylation of tau, accompanied by abnormal behavior in mice. *Biological Chemistry*, 2006, **387**(7): 977–983
- [45] Yu D Y, Luo J, Bu F, *et al.* Effects of CsA, FK506 and rapamycin on calcineurin activity in mouse brain. *IUBMB life*, 2006, **58** (7): 429–433
- [46] Wei Q, Holzer M, Brueckner M K, *et al.* Dephosphorylation of tau protein by calcineurin (PP2B) led to neural living cells. *Cell Mol Neurobiol*, 2002, **22**(1): 13–24
- [47] Ermak G, Morgan T E, Davies K J. Chronic overexpression of the calcineurin inhibitory gene DSCR1 (Adapt78) is associated with Alzheimer's disease. *J Biol Chem*, 2001, **276**(42): 38787–38794
- [48] Harris C D, Ermak G, Davies K J A. Multiple roles of the *DSCR1* (*Adapt78* or *RCAN1*) gene and its protein product calcipressin 1 (or RCAN1) in disease. *Cell Mol Life Sci*, 2005, **62**(21): 2477–2486
- [49] Cook C N, Hejna M J, Magnuson D J, *et al.* Expression of calcipressin1, an inhibitor of the phosphatase calcineurin, is altered with aging and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2005, **8**(1): 63–73
- [50] Hoeffler C A, Dey A, Sachan N, *et al.* The down syndrome critical region protein RCAN1 regulates long-term potentiation and memory *via* inhibition of phosphatase signaling. *J Neurosci*, 2007, **27**(48): 13161–13172
- [51] Chang K T, Shi Y J, Min K T. The *Drosophila* homolog of Down's syndrome critical region 1 gene regulates learning: implications for mental retardation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100** (26): 15794–15799
- [52] Ma H, Xiong H, Liu T, *et al.* Aggregate formation and synaptic

- abnormality induced by DSCR1. *J Neurochem*, 2004, **88** (6): 1485-1496
- [53] Keating D J, Dubach D, Zanin M P, *et al.* DSCR1/RCAN1 regulates vesicle exocytosis and fusion pore kinetics: implications for down syndrome and Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 2008, **17**(7): 1020-1030
- [54] Portal S, Serra S A, Huch M, *et al.* RCAN1 (DSCR1) increases neuronal susceptibility to oxidative stress: a potential pathogenic process in neurodegeneration. *Hum Mol Genet*, 2007, **16**(9): 1039-1050
- [55] Stie J, Fox D. Calcineurin regulation in Fungi and beyond. *Eukaryot Cell*, 2008, **7**(2): 177-186
- [56] Mellström B, Gomez-Villafuertes R, Naranjo J R. Ca²⁺-operated transcriptional networks: molecular mechanisms and *in vivo* models. *Physiol Rev*, 2008, **88**(2): 421-449
- [57] Ermak G, Hench K J, Chang K T, *et al.* Regulator of calcineurin (RCAN1-1L) is deficient in huntington disease and protective against mutant huntingtin toxicity *in vitro*. *J Biol Chem*, 2009, **284** (18): 11845-11853
- [58] Yang Y J, Chen W, Edgar A, *et al.* Rcan1 negatively regulates FcεRI-mediated signaling and mast cell function. *J Exp Med*, 2009, **206**(1): 195-207
- [59] 李天柱, 向本琼. 蛋白磷酸酶 PP2A 的结构及其肿瘤抑制因子功能. *生物化学与生物物理进展*, 2009, **36**(2): 133-142
- Li T Z, Xiang B Q. *Prog Biochem Biophys*, 2009, **36**(2): 133-142
- [60] 王柏静, 魏群. Ser/Thr 蛋白磷酸酶 PPP 家族结构研究新进展. *中国科学 C 辑*, 2008, **38**(7): 591-598
- Wang B J, Wei Q. *Sci in China Series C*, 2008, **38**(7): 591-598
- [61] 阎力君, 于翠娟, 张丽芳, 等. 不同免疫抑制剂对钙调神经磷酸酶及其突变体的影响. *中国科学 C 辑*, 2000, **30**(2): 177-182
- Yan L J, Yu C J, Zhang L F, *et al.* *Sci in China Series C*, 2000, **30** (2): 177-182
- [62] Luo J, Ma J, Yu D Y, *et al.* Infusion of FK506, a specific inhibitor of calcineurin, induces potent tau hyperphosphorylation in mouse brain. *Brain Res Bull*, 2008, **76**(5): 464-468
- [63] Luo J, Yin J H, Wei Q. The effect of a calcineurin activator, extracted from Chinese herbal medicine on memory and immunity in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 2003, **75**(4): 749-754
- [64] Tong L, Song Y, Zhang S D, *et al.* Calmodulin-dependent activation of calcineurin by chlorogenic Acid. *IUBMB Life*, 2007, **59**(6): 402-407
- [65] Wu H Z, Luo J, Yin Y X, *et al.* Effects of chlorogenic acid, an active compound activating calcineurin, purified from *Flos lonicerae* on macrophage. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, **25** (12): 1685-1689

A New Family of Regulators of Calcineurin (RCANs)*

TU Ling-Hui, LIU Hai-Peng, LUO Jing**

(College of Life Science, Beijing Normal University,

Beijing Key Laboratory of Genetic Engineering Drugs and Biotechnology, Beijing 100875, China)

Abstract Calcineurin is a serine-threonine protein phosphatase that plays a pivotal role in a wide series of crucial physiologic processes such as T-cell activation, apoptosis, skeletal myocyte differentiation, and cardiac hypertrophy. A new family of regulators of calcineurin (RCANs) has been shown to modulate calcineurin activity through direct binding of it *in vivo*. Calcineurin-independent signals are transduced to the nucleus by nuclear factor of activated T-cells (NFAT) transcription factors that undergo nuclear translocation upon dephosphorylation and promote transcriptional activation of target genes. The recent researches have revealed that RCAN1 modulating catalytic activity of calcineurin can function as an endogenous backfeed inhibitor during the calcineurin-NFAT signalling pathway. RCANs have now been implicated in several pathological conditions including Alzheimer's disease, down syndrome and cardiac hypertrophy. In addition, the RCAN family is a rational, functional name for *RCAN* gene and it is proposed in 2007. It is, therefore, necessary to review the *RCAN* gene, RCANs and the roles of RCANs in a wide variety of diseases especially including Alzheimer's disease. It is suggested that regulation of RCAN expression may be a new target on neurodegeneration disease.

Key words calcineurin, *RCAN* gene, RCANs, tau, Alzheimer's disease

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00287

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30772558), The National Basic Science Personnel Training Foundation of China (0630642).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-58808197, E-mail: luojing@bnu.edu.cn

Received: July 27, 2009 Accepted: September 3, 2009