

摘要

神经信号传导的终止依赖于特异性神经递质转运蛋白对神经递质的重摄取作用,而大部分的神经递质转运蛋白都属于 Na^+/Cl^- 转运蛋白家族。本文综述了 Na^+/Cl^- 转运蛋白家族的五个亚类以及 Na^+/Cl^- 转运蛋白的结构和生理学功能方面的研究进展。

参考文献

- [1] Schuldiner, S. et al., 1994, *J. Neurochem*, 62:1067.
- [2] Schloss, P. et al., 1992, *FEBS Lett*, 307:76.
- [3] Kanner, B. I. et al., 1994, *FEBS Lett*, 356:191.
- [4] McGavin, J. D. et al., 1994, *Biochem. J*, 299:321.
- [5] Guastella, J. et al., 1990, *Science*, 249:1303.
- [6] Eisenberg, D. et al., 1984, *Annu. Rev. Biochem*, 53:595.
- [7] Majeesh, N. J. et al., 1992, *FEBS Lett*, 299:99.
- [8] Melikian, H. E. et al., 1994, *J. Biol. Chem*, 269:12290.
- [9] Baruchi, K. et al., 1994, *J. Exp. Biol*, 196:237.
- [10] Golovanevsky, V. et al., 1999, *J. Biol. Chem*, 274:23020.
- [11] Liu, Q. R. et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:6639.
- [12] Lill, H. et al., 1998, *Methods Enzymol*, 296:425.
- [13] Krogsaard, L. P. et al., 1987, *Epilepsy Res*, 1:77.
- [14] Conti, F. et al., 1999, *J. Comp. Neurol*, 409:482.
- [15] Lopez, C. B. et al., 1992, *J. Biol. Chem*, 267:17491.
- [16] Liu, Q. R. et al., 1993, *J. Bio. Chem*, 268:2106.
- [17] Ben, A. Y. et al., 1997, *trends neurosci*, 20:523.
- [18] Bengel, D. et al., 1998, *Mol. Phamcol*, 53:649.
- [19] Liu, Q. R. et al., 1993, *J. Biol. Chem*, 268:22802.
- [20] Doring, M. et al., 1995, *Nature*, 376:174.
- [21] Snyder, S. H. et al., 1986, *Neurology*, 36:250.
- [22] Demaria, J. E. et al., 2000, *Endocrinology*, 141:366.
- [23] Javitt, D. et al., 1997, *Neuropsychopharmacology*, 17:202.
- [24] Giros, B. et al., 1996, *Nature*, 379:606.
- [25] Nathan, N., 1998, *J. Neuchem*, 71:1785.

“杀手”蛋白酶 caspase

李小明 宋天保

(西安医科大学组织学与胚胎学教研室 西安 710061)

细胞凋亡(apoptosis)或称程序性细胞死亡(Programmed cell death, PCD)是多细胞生物正常发育、分化过程中进行细胞删除的一种基本机制,与组织自稳、衰老及细胞损伤密切相关。凋亡异常可引起人类难治性疾病,如 Parkinson's 和 Huntington's 病, AIDS、Alzheimer's 病、免疫缺陷、自身免疫紊乱、缺血性心血管疾病、神经系统疾病、秃发、白血病、淋巴瘤及其他癌症,并与肿瘤治疗抗性有关^[1,2]。虽然细胞凋亡时许多生化事件已被确认,但凋亡诱发、调控的分子生化机制仍不明

确。新近,凋亡时出现的生化事件,尤其是蛋白酶活性的改变已成为科学家们研究的热点。

PCD 重要成分的确立始于 1986 年 Ellis 等^[3]对秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)发育过程中细胞死亡的遗传学调控研究。研究发现,构成线虫胚胎的 1090 个细胞中有 131 个细胞最终走向凋亡。目前已克隆出 15 个参与细胞凋亡各阶段的相关基因 CED,其中的 3 个基因 CED-3、CED-4、CED-9 的突变影响体细胞凋亡的进程。CED-3、CED-4 是细胞凋亡所必需的,而 CED-9 是细胞存活所必需的。CED-9

泌的调节。

甘氨酸作为 NMDA 受体的协同激动剂 (coagonist) 在 NMDA 上有一个结合位点, 甘氨酸与该位点结合产生的异构效应为 NMDA 受体的激活所必需, 因而该位点成为抗惊厥类药物作用设计的靶目标。然而, NMDA 受体与甘氨酸的亲合力在低毫摩尔水平, 而正常生理条件下脑脊液中甘氨酸的浓度较之高几个数量级, 因此, NMDA 上的甘氨酸结合位点在任何情况下应处于饱和状态——以至甘氨酸无法发挥作为协同激动剂的作用。NMDA 受体周围区域甘氨酸转运蛋白的存在则能维持该区域的甘氨酸处于低浓度水平, 从而保证了甘氨酸作为 NMDA 受体协同激动剂的功能。另外, NMDA 受体周围区域甘氨酸转运蛋白的存在甚至可以完全改变 NMDA 受体对谷氨酸的反应, 正因为如此, 甘氨酸转运蛋白对于维持谷氨酸能的神经传导具有重要作用。Javitt 等^[23]发现在 Phencyclidine (PCP) 诱导产生歇斯底里症状 (Schizophrenia-like) 的动物模型上给予甘氨酸转运蛋白的抑制剂——Glycyldodecylamide 可以明显改善其症状。

正是由于许多神经递质转运蛋白具有一个或多个药物作用的靶位点, 因而成为治疗神经性疾病的一个重要候选者。尽管目前神经递质受体仍然是神经药理学研究的主流, 但选择转运蛋白作为药物治疗的靶效应物从理论上讲较之受体更具优越性: 1) 神经递质的释放完全取决于生理效应——即以针对神经递质的转运蛋白为靶位点的药物仅在生理条件下起作用; 2) 每一种神经递质都具有很多亚型的受体且分布各异, 针对各个受体亚型的特异性药物很难取得整体效应——譬如希望延长神经递质作用的效应, 而转运蛋白则因其亚型不多而相对受限较少。一个成功的例子是 Prozac 作为 5-羟色胺转运蛋白的特异性抑制剂广泛应用于治疗抑郁症; 3) 选择转运蛋白作为靶位点的治疗效应可达数周, 据认为是神经递质作用效应的延长导致了分子生物学过程的改变——如参与神经递

质代谢的酶的合成或是活性改变。对多巴胺转运蛋白基因剔除小鼠的研究支持这一观点。

随着分子生物学技术的发展, 转基因和基因剔除动物可望为进一步深入研究神经递质转运蛋白的功能提供有用的模型, 并可作为治疗神经疾病类药物有效的筛选系统。目前已获得去甲肾上腺素转运蛋白 (NAT)、多巴胺转运蛋白 (DAT) 和 5-羟色胺转运蛋白 (HTT) 基因缺陷小鼠, 谷氨酸转运蛋白两个亚型 (GLT-1、EAAC1) 转基因小鼠等神经递质转运蛋白动物模型^[24]。我们实验室应用自己建立的 γ -氨基丁酸转运蛋白过度表达转基因小鼠, 初步研究了 γ -氨基丁酸转运蛋白在神经系统及外周组织中的作用。经典条件性回避反应测试表明, 转基因鼠联合型学习与记忆能力 (67.1 + 6.8 次) 比野生型的 (34.6 + 4.9 次) 差且具显著性 ($P < 0.001$); 视觉识别任务 (Visual Recognition Task) 分析则发现, 与野生型相比, 转基因鼠的记忆更易衰退并伴随探索行为减退和痴呆症状的出现。上述实验提示 γ -氨基丁酸转运蛋白的适度表达对于维持正常的认知功能具有重要意义; γ -氨基丁酸转运蛋白的表达调控可能参与了某些类型的神经退行性病变过程。令人感兴趣的是, 药物诱导癫痫的初步实验发现, 转基因鼠对海人藻酸 (KA) 诱发癫痫的敏感性较野生型高; 同时, 脑电记录 (EEG) 揭示了转基因鼠大脑皮层脑电功率和脑电频率分布模式与野生型的差异, 但不清楚这一差异是否与两者的癫痫敏感性有关。进一步的电生理分析可望揭示 γ -氨基丁酸转运蛋白是否参与了神经兴奋传导的细微调控。另外, γ -氨基丁酸转运蛋白在转基因鼠睾丸中的过量表达导致了曲精细管生精上皮空泡化、间质区毛细血管异常增生等形态变化; 同时, 低严谨度观察实验亦发现, 与雄性转基因鼠合笼的雌性野生型小鼠的怀孕率比与雄性野生型合笼的雌性野生型小鼠的低, 提示 γ -氨基丁酸转运蛋白的表达失恒可能与某些类型的雄性不育症相关。

基因产物是哺乳动物抗凋亡的原癌基因 *bcl-2* 产物的同源物^[4]。

近年来的研究结果表明参与凋亡调控机制的多种效应剂、抑制剂及启动子在生物进化过程中保留下来,在已发现的哺乳动物细胞凋亡相关分子中,最主要的是与线虫细胞死亡蛋白 *Ced-3* 相似的半胱氨酸蛋白酶家族成员,这些被称之为 ICE (interleukin-1 β -converting enzyme)/CED-3 家族的蛋白酶被认为是 *Ced-3* 在哺乳动物细胞中的对应物,在哺乳动物细胞凋亡调控的生化事件中起关键作用,这一假说被大量实验结果所证实^[5,6]:首先,该家族某些特殊成员是细胞凋亡后关键性蛋白质降解的相关酶;第二,这些蛋白酶的抑制剂在体内发育及在体内外凋亡模型中可抑制凋亡的发生;第三,许多该家族成员在凋亡时翻译表达的启动与凋亡表征的出现有关,甚至是必不可少的。最后,最引人注目的是,基因剔除该家族某些成员鼠的实验研究显示出异常的细胞凋亡现象^[7]。故 Nicholson 称其为杀手蛋白酶 (killer proteases)^[8]。

在此,我们介绍该家族成员相关的研究成果,包括其生化特性,底物、抑制剂及凋亡机制。

一、caspase 家族

当 1992 年该家族第一个成员 ICE 被纯化、克隆并测序后,发现其与其他已知蛋白质无任何关系,而与 CED-3 有同源性^[6,9],该发现促使人们去深入研究其同源物,至 1996 年已发现 10 个 ICE/CED-3 家族成员^[10,11]。它们是结构特征相似的半胱氨酸蛋白酶,而且都是特异地 Asp 后切割肽键,故于 1996 年被统一命名为 caspase。“C”表示它们属于半胱氨酸蛋白酶 (cysteine protease)，“aspase”表示其为切割天冬氨酸 (aspartic acid, Asp) 的酶,而 caspase 基因称 CASP,该类酶原用“pro-酶”的名称表示,如 pro-caspase-3。按系统发育将 caspase 家族成员分为 3 个亚家族^[9]: I 类,即 ICE 亚家族,包括 caspase-5 (ICERel- III, TY)、caspase-4

(TX, ICH-2, ICERel- I) 和 caspase-1 (ICE); II 类,即 CPP32 亚家族,包括 caspase-7 (Mch3, ICE-LAP3, CMH-1)、caspase-3 (CPP32, Yama, apopain)、caspase-6 (Mch2)、caspase-8 (MACH, FLICE, Mch5) 和 caspase-10 (Mch4); III 类,即 ICE-1 亚家族,包括 caspase-2 (ICH-1, Nedd2) 和 caspase-9 (ICE-LAP6, Mch6)。括号内为曾用名。此后又发现了 caspase-11-13, caspase-11 曾被认为是 Ich-3, caspase-13 曾用名是 ERICE,它们均属 ICE 亚家族。有关 caspase-12 的报道未检索到^[12,13]。

这些 caspase 蛋白分子的共同特征是:(1) 均以休眠状态的酶原形式存在于正常细胞中,无活性的酶原在其 Asp-X 键处被切割产生大小亚基,活性分子均是大亚基和小亚基组成的四聚体。(2) 都有相似的催化部位,包括一个含有活性位点 Cys 残基的保守的 QACRG 基元和一个含 His 残基的 SHG 基元。(3) 具有自身活化和/或相互激活的能力^[14]。

应该指出,已发现的 caspase 蛋白酶在组织分布及降解已知底物功能上彼此有重叠现象,但不同细胞系中或同一细胞受不同刺激诱导凋亡过程中,激活的 caspase 可能不尽相同。大量的事实证明, caspase-1, -4, -5 主要在炎症反应中起作用,而 caspase-2, -3, -8, -9, -10 主要参与细胞凋亡^[9]。

二、caspase 抑制剂

已发现多种可逆及不可逆的半胱氨酸蛋白酶抑制剂,部分已作为 caspase 家族成员可能的抑制剂被人工合成开发利用^[6]。可逆性抑制剂包括醛、酮和腈;不可逆抑制剂是具有以下结构的物质:肽-CO-CH₂-X (X 是卤离子,如氯甲基酮、氟甲基酮), -N₂ (重氮甲基酮), -OCOR (酰基氯化甲基酮) 或 -OR 等。这类抑制剂的特点是具有一个与 caspase 内源底物一致的肽识别结构成分,例如与 caspase 内源底物 IL-1 β 前体上酶切位点相似的四肽醛 Ac-YVAD-CHO 是 caspase-1 的抑制剂。同样,与 caspase-3 内源

底物酶切位点一致的 Ac-DEVD-CHO 是 caspase-3 很好的抑制剂。实验证明, Ac-YVAD-CHO 仅对 caspase-1 有抑制作用, 而 Ac-DEVD-CHO 也是 caspase-1 的抑制剂。

除此之外, 还发现 3 种天然蛋白酶抑制剂。细胞因子调节剂 CrmA 是从痘牛病毒分离出来的 38kDa 的丝氨酸蛋白酶抑制剂, 通常可抑制宿主炎症和细胞的凋亡, 从而促使病毒感染^[15]。CrmA 对 caspase-1 和 caspase-3 均有抑制作用, 它特异识别 LVAD 序列而产生抑制效应。后来发现, CrmA 对 caspase-8 有更强的抑制能力, 或许这就是 CrmA 可抑制经 Fas 途径诱导的细胞凋亡的原因^[16]。

来源于杆状病毒的 35kDa 的病毒基因产物 P35, 通过抑制 caspase 减缓凋亡的进程^[17]。在线虫、昆虫及哺乳动物细胞中 P35 合成意味着细胞凋亡被削弱。P35 也是 caspase 家族多个成员 (caspase-1-4) 及 Ced-3 的不可逆抑制剂。

凋亡抑制剂 IAPs (inhibitors of apoptosis) 与 CrmA 和 P35 不同, 是哺乳动物细胞凋亡的内源性抑制剂。它们通过直接抑制 caspase 或 caspase 酶原活化以及通过调节转录因子 NF-KappaB 抑制细胞凋亡^[18]。其成员之一 XIAP 直接抑制 I 类 caspase 如 caspase-3 和 caspase-7 发挥作用, 而对 II 类及 III 类 caspase 抑制能力较弱^[19]。

三、细胞凋亡时 caspase 的酶解底物

一旦细胞死亡途径启动, 一系列蛋白酶解的特异底物便分别被降解。目前, 许多这样的底物已被确认^[8, 20, 21]。细胞凋亡中第一个被鉴定出的由 caspase 降解的底物是 PARP (Poly ADP-ribose polymerase), 它是 DNA 损伤修复酶, 有些研究者已将其作为凋亡标志物。凋亡时 caspase 降解的其他底物还有与基因组相关的 460kDa 的 DNA 依赖的蛋白激酶催化底物, 70kDa 的 U1 微核核糖核酸蛋白组分, 异核核

糖核酸蛋白 C 和 140kDa 的 DNA 复制复合物 C 组分; 细胞周期调节因子视网膜母细胞瘤基因 Rb 产物和蛋白激酶 C δ -同工酶。

核与胞质的结构蛋白纤层蛋白、肌动蛋白和胞衬蛋白都是 caspase 的底物。研究还发现, DNA 片段化因子 DFF (DNA fragmentation factor) 既可引发 DNA 片段化又是 caspase 的底物。细胞与组织结构的脱离可能是凋亡时降解的聚焦粘附激酶 FAK 和 APC 基因产物作用的结果, 但与其相关的 caspase 尚不明确。caspase 的底物还有固醇调节因子结合蛋白 SREBP-1 和 SREBP-2。

Caspase 对其降解的底物有严格的选择性, 但彼此也有交叉。目前发现核纤层蛋白仅能被 caspase-6 降解。SREBP 及参与 DNA 双链断裂的修复工作的 DNA 依赖性蛋白激酶 DNA-PK 是 caspase-3 的底物。而 PARP 可被大多数 caspase 降解^[22]。

上述及其他尚未发现的酶解事件的最终效应是: (1) 阻抑细胞周期进程; (2) 自稳及修复机制丧失; (3) 细胞与其周围组织开始分离; (4) 结构成分解体; (5) 巨噬细胞和其他细胞吞噬死亡细胞; (6) 出现凋亡最终特征。目前尚不完全明确 caspase 和其底物与凋亡最终标志之间的直接关系。已证明 caspase-3 或其他 caspase 激活 DFF, 使其水解染色质出现 DNA 梯状带之前大小一致的 DNA 大片段。Caspase 激活 DNA 蛋白激酶使 DNA 大片段降解成小片段产生 DNA 梯状带。PARP 对 DNA 修复的阻抑、纤层蛋白降解, 以及可解除核包裹的凝溶胶蛋白、胞衬蛋白、肌动蛋白和微丝的水解均使细胞形状发生改变, 导致细胞解体。而 caspase-3 间接激活 DNA 酶 CAD (caspase-activated DNase) 使染色质 DNA 降解, 推测它与死亡细胞的彻底消除有关^[23]。凋亡时仅一个独立蛋白的降解是不可能的, PARP 剔除鼠凋亡表征不明显充分说明了这一点。所以说, 凋亡是多个但有限的蛋白酶高度有序的酶解死亡过程^[8]。

四、caspase 与细胞凋亡调控机制

1. 细胞凋亡的阶段性的

大量事实证明,细胞凋亡是一个由启动因子,各种效应因子和抑制因子参与的复杂的蛋白酶级联反应过程。传统上将细胞凋亡蛋白酶级联反应人为分成信号引发,调控执行及结构改变三个阶段。不同的诱发因素经不同的信号途径介导,将胞外信号传导至胞内,进入调控执行阶段;胞内多种蛋白酶接到凋亡命令后逐级降解各自的底物,最终显示出凋亡表征^[8]。凋亡的发生发展与信号传导、胞内多种生化分子密不可分,在哺乳动物中最主要的凋亡效应因子是 caspase。

2. 信号引发途径

在信号引发阶段,最合理的机制是 CD-95 (Fas/Apo-1)受体传导途径。死亡受体(Fas、TNFR-2、DR3 和 TRAIL 受体)接受胞外的凋亡刺激与同源配基结合产生异位表达,在胞内受体上的死亡域与结合器分子 FADD 相应区域相互作用,进而与死亡蛋白酶 FLICE 或 caspase-8 酶原形成复合体,在其数量达到一定程度时,使 caspase-8 自身活化从而启动凋亡的执行。

另一种被普遍接受的机制是,基因毒性损伤、细胞毒性刺激、生长因子撤除、糖皮质激素刺激以及辐射等各种不利因素经过 Bcl-2 家族成员的调控将信息传达到效应 caspase。但尚不知此诱发因素是怎样传导到 Bcl-2 家族成员的^[8]。

Bcl-2 家族成员包括抗凋亡成员和促凋亡成员。抗凋亡成分有 Bcl-2 和 Bcl-x1,是通过封闭 caspase 或阻止线粒体凋亡相关因子 AIF (apoptosis-inducing factor)(如细胞色素 c)向胞质的释放以抑制凋亡的发生。而 Bax 和 Bak 是促凋亡成员,通过启动 caspase 活化及促发细胞色素 c 的释放发挥功能。可以说 Bcl-2 家族在一般凋亡途径中是确定细胞生与死的关键。此时尚不知道 Fas 途径与 Bcl-2 途径这两

种机制之间有无关联抑或是如何转换的^[25]。

3. 细胞凋亡调控执行阶段蛋白酶级联反应机制

在细胞凋亡调控执行中心阶段,线虫细胞死亡途径中的三个主要成分及其作用机制已比较明了^[26,27]。Ced-9(抗凋亡 Bcl-2 样蛋白)和作为 pro-Ced-3(线虫的 caspase)特异性伴侣的 Ced-4 共同稳定和调节 Ced-3 的活性。当接受到死亡信号时,Ced-9/4/3 复合物中 Ced-9 游离,对 ATP 水解的阻抑解除,Ced-3 获能并通过 Ced-4 发生重组而活化。至于 Ced-4 在 Ced-3 活化中如何发挥作用,目前,有两种推测,一种认为 Ced-4 作为蛋白酶直接降解 Ced-3 使其活化;另一种假说认为,Ced-4 可促发 Ced-3 自身活化。

在一系列关于 caspase-3 活化机制的生化研究中发现,一些 caspase 的活化机制与线虫 Ced-3 相同。已经从人细胞中纯化出 3 种在 dATP 存在时能激活 caspase-3 的蛋白质,并确认 Apaf3 是 caspase-9,与 Ced-3 有相似的结构;Apaf1 与 Ced-4 有很长的同源序列;Apaf2 是参与线粒体电子传递的泛素蛋白细胞色素 c,正常情况下位于线粒体内膜的外表面^[28]。

研究发现,Bcl-2 家族成员对细胞凋亡的双重调控主要是通过对细胞色素 c 释放的控制实现的推测,当接受到凋亡信号时 Bax 作为细胞色素 c 的上游酶促发其从线粒体释放到胞浆中,细胞色素 c 与 Apaf1 结合使 caspase-9 活化。caspase-9 和 Apaf1 均含使它们相互作用不可缺少的募集区(caspase recruitment domain, CARD)模体(motif)。Caspase-3 缺乏 CARD,不能与 Apaf1 结合。而有些 caspase 却具有 CARD,比如哺乳动物细胞中的 caspase-4 和 caspase-8 也可与 Apaf1 结合。抗凋亡蛋白 Bcl-x1 可与 caspase-9 及 Apaf1 互相作用,导致 caspase-9 活化受阻^[29]。

事实上,不但细胞色素 c 激活 caspase,活性 caspase 也促进细胞色素 c 从线粒体释放,提示线粒体上存在 caspase 底物,该底物的降解

又加速细胞色素 c 释放。线粒体可能作为凋亡放大器形成细胞色素 c 与 caspase 活性之间的正反应环,任何因素引发该环中细胞色素 c 释放或 caspase 活化都将启动“死亡环”,最终导致大规模 caspase 活化、caspase 级联反应及凋亡发生^[30~32]。

4. Fas 途径与 Bcl-2 途径的关系

去年 Yuan J 和 Wang X^[33,34] 研究小组的研究结果将 Fas 途径与 Bcl-2 途径连在了一起。他们发现并纯化出一种存在于胞质中的称为 Bid 的蛋白质,它属于 Bcl-2 家族成员,可与 Bcl-2、Bax 相互作用,它是 Fas 凋亡信号途径激活的 caspase-8 的底物。活性 Bid 进入线粒体后,首先诱导线粒体群集于细胞核周围,同时促进细胞色素 c 的释放,激活 caspase-9,进一步活化效应 caspase,最后导致线粒体膜电位丢失,染色质凝集等一系列在 caspase 作用下产生的凋亡征象。这些结果说明,Bid 是 caspase-8 诱导的线粒体损伤的媒介,也是连接 Fas 受体至 caspase-8 信号引发路径与细胞色素 c、caspase-9 至最终 caspase 执行的凋亡路径这两个阶段之间的桥梁。

5. caspase 与多种凋亡途径

目前人为将 caspase 分为上游 caspase (启动子、信号蛋白) 和下游 caspase (效应 caspase), caspase-8、-9 当属启动子,而 caspase-3、-7 属效应 caspase。然而,caspase 可相互激活;某些成员具有相同的活性结构;它们的底物彼此也有交叉;加之目前对所有 caspase 成员的功能及其之间关系尚不完全明了,所以不能在功能上将其明确划分归类。

基因靶技术为研究者提供了很好的探求 caspase 功能及其相互关系的手段。几个 caspase 剔除鼠 (caspase-1,-2,-3,-11) 显示出异常的细胞死亡现象,充分证明 caspase 在凋亡中的重要作用。有趣的是,这些基因剔除并不显示普遍的细胞凋亡的受阻,而表现出组织细胞类型及诱发因素的特异性,说明在体内不同系列的 caspase 参与各自的细胞凋亡途径^[35]。

去年,Hakem R 等^[29,35] 通过对 caspase-9 和 caspase-3 的基因剔除研究各种因素诱导的不同细胞的凋亡,实验结果确立了 caspase-9 至 caspase-3 的级联反应,同时发现 caspase-9 和 caspase-3 并不是所有细胞凋亡所必需的。他们认为至少存在四种凋亡途径:(1) caspase-9 和 caspase-3 依赖性,它存在于正常的大脑发育及紫外线诱导的胚胎干细胞的凋亡中。(2) caspase-9 和 caspase-3 非依赖性,它存在于紫外线诱导胸腺细胞的凋亡中。(3) caspase-9 非依赖 caspase-3 依赖性,存在于 α -CD95 和 α -CD3 对 T 淋巴细胞诱发的凋亡。(4) caspase-9 依赖和 caspase-3 非依赖性,见于地塞米松、 γ 射线诱发胸腺细胞、脾细胞和胚胎干细胞的细胞凋亡。信号引发的多途径、caspase 的相互激活、caspase 结构功能域相同性以及作用底物的交叉使得某些 caspase 彼此互补,使凋亡调控的多途径成为可能。比如,caspase-4 和 caspase-8 与 caspase-9 均具有 CARD 模体,它们可能是 caspase-9 的后备成员。综上所述,在哺乳动物,多种细胞凋亡途径的存在充分体现了细胞凋亡调控的灵活性。

细胞凋亡是一个非常复杂的过程,关于细胞凋亡机制的研究进展迅速,随着科学家不懈的努力和研究的深入,最终明确凋亡机制,为彻底治疗凋亡相关疾病提供新的理论和手段。

参 考 文 献

- [1] Wyllie AH. 1980, *Int. Rev. Cytol.*, **68**:251-306.
- [2] Thompson CB. 1995, *Science*, **267**:1456-1462.
- [3] Ellis RE., et al., 1991, *Annu. Rev. Cell Biol.*, **7**:663-698.
- [4] Hengartner MO. and Horvitz R., 1994, *Cell*, **76**:665-676.
- [5] Yuan J., et al., 1993, *Cell*, **75**:641-652.
- [6] Cerretti DP., et al., 1992, *Science*, **256**:97-100.
- [7] Colussi PA., et al., 1999, *Immunol. Cell Biol.*, **77**:58-63.
- [8] Nicholson DW. and Thornberry NA., 1997, *TIBS*, **22**:299-306.
- [9] Thornberry NA., et al., 1992, *Nature*, **356**:

- 768-774.
- [10] Nicholson DW., et al., 1995, *Nature*, **376**: 37-43.
- [11] Alnemri ES., et al., 1996, *Cell*, **87**: 171.
- [12] Wang S., et al., 1998, *Cell*, **92**: 501-509.
- [13] Humke EW., et al., 1998, *J. Biol. Chem.*, **273**: 15072-150707.
- [14] Patel T., et al., 1996, *FASEB*, **10**: 587-597.
- [15] Ray CA., et al., 1992, *Cell*, **69**: 597-604.
- [16] Zhou Q., et al., 1997, *J. Biol. Chem.*, **272**: 7797-7800.
- [17] Bump NJ., 1995, *Science*, **269**: 1885-1888.
- [18] LaCasse EC., 1998, *Oncogene*, **17**: 3247-3259.
- [19] Deveraux QL., 1997, *Nature*, **388**: 300-304.
- [20] Lazebnik Y., et al., 1994, *Nature*, **371**: 346-347.
- [21] Casciola-Rosen L., et al., 1996, *J. Exp. Med.*, **183**: 1957-1964.
- [22] Alnemri ES., et al., 1997, *J. Cell Biochem.*, **64**: 33-42.
- [23] Wyllie A., et al., 1998, *Nature*, **391**: 20-21.
- [24] Muzio M., 1998, *Int. J. Clin. Lab. Res.*, **28**: 141-147.
- [25] Tsujimoto Y., 1998, *Genes Cells*, **3**: 697-707.
- [26] Hengartner MO., 1997, *Nature*, **388**: 714-715.
- [27] Wu D., et al., 1997, *Science*, **275**: 1126-1129.
- [28] Zou H., et al., 1997, *Cell*, **90**: 405-413.
- [29] Hakem R., et al., 1998, *Cell*, **94**: 339-352.
- [30] Rosse' T., et al., 1998, *Nature*, **391**: 496-499.
- [31] Zivotovsky B., et al., 1998, *Nature*, **391**: 449-450.
- [32] Hengartner MO., 1998, *Nature*, **39**: 441-442.
- [33] Li H., et al., 1998, *Cell*, **94**: 491-501.
- [34] Luo X., et al., 1998, *Cell*, **94**: 481-190.
- [35] Kuida K., et al., 1998, *Cell*, **94**: 325-337.

免疫球蛋白超家族分子在神经系统中的分布及功能

陈丽华 金伯泉

(第四军医大学免疫学教研室 西安 710032)

免疫球蛋白超家族 (immunoglobulin superfamily, IgSF) 分子是以基因和分子水平上的结构相似性为分类依据, 在氨基酸组成上与免疫球蛋白可变区 (V 区) 或恒定区 (C 区) 有较高同源性的蛋白分子。根据 IgSF 结构域中 Ig 折叠方式、两个半胱氨酸之间氨基酸残基的数目以及与 IgV 区或 C 区同源性的程度, IgSF 结构域可分为 V 组、C1 组和 C2 组。V 组结构域的两个半胱氨酸之间含 65-75 个氨基酸残基, 2 个 β 片层区共有 9 个反平行 β 折叠股; C1 组结构域中两个半胱氨酸之间含 50-60 个氨基酸残基, 有 7 个 β 折叠股; C2 组结构域的氨基酸排列类似 V 组, 但形成二硫键的两个半胱氨酸之间所含氨基酸残基数为 50-60, 有 7 个 β 折叠股, 这种结构介于 V 组和 C1 组之间。

近年来, 由于细胞表面标志、单克隆抗体及基因工程的应用, 不仅证实了许多存在于免疫系统的 IgSF 分子分布于神经系统, 而且还发现

许多只存在于神经系统中的 IgSF 分子, 这些分子在神经系统的生长、发育和分化过程中发挥重要功能。根据结构和功能的不同, 神经系统 IgSF 分子可分为两类: 第一类分子的分子量相对较大, 在 67-200 kDa 之间, 分子的胞膜外区含有数个 IgSF C2 结构域和纤粘连蛋白 III 型重复序列, 主要包括神经细胞粘附分子 (N-CAM)、神经细胞粘附分子 L1 (N-CAM L1)、接触蛋白 (contactin/F11/F3)、髓磷脂相关糖蛋白 (MAG)、瞬时表达的轴突糖蛋白 1 (TAG-1)、束状蛋白 I (fasciclin I) 以及果蝇体内的神经胶质蛋白 (neuroglian) 等分子。它们主要分布于神经系统, 参与轴突的伸长、束状化和髓磷脂化, 突触的形成, 神经元间的相互作用和血脑屏障的形成等功能, 分子中的纤粘连蛋白 III 型重复序列可能和它们与细胞外基质蛋白相互结合有关; 另一类分子的分子量相对较小, 在 25-60kDa, 分子内含有 1 或 2 个 IgSF V 样结构