

PRAX-1 蛋白主要结构和功能的研究进展

徐 涛

(第二军医大学 上海 200433)

摘要:本文就外周型苯二氮卓类受体(Peripheral benzodiazepine receptor, PBR)的相关蛋白 PRAX-1 的主要结构和功能进行论述,为细胞凋亡研究和抗抑郁治疗提供一个新思路。

关键词:外周型苯二氮卓类受体;相关蛋白;二聚化;抗抑郁;肿瘤

中图分类号:R344 **文献标识码:**A

Progress on the Structures and Functions of PRAX-1

XU Tao

(Second military medical university, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT: The structures and functions of PRAX-1, a protein associated with peripheral-type benzodiazepine receptor(PBR), will be discussed in this review, which can offer some new ideas for the further study of the mechanism of apoptosis and the treatment of antidepressant.

Key words: Peripheral-type benzodiazepine receptor; Associated protein; Dimerization; Antidepressant; Tumor

1 引言

外周型苯二氮卓类受体(peripheral-type benzodiazepine receptor, PBR)是一个由 169 个氨基酸组成的具有 5 个线粒体外跨膜结构域的蛋白质,主要分布在肾上腺,卵巢,神经胶质和肺,肝,肾等器官的线粒体外膜上^[1],有证据证明 PBR 在其他缺乏线粒体的地方也有表现^[2]。PBR 参与了体内多种重要细胞功能的调控,包括:(1)参与细胞线粒体呼吸作用的调控;(2)参与了细胞的增生和分化;调节细胞的生长。PBR 过量表达以及在细胞核上的异常分布可能是乳腺癌发生的主要因素之一;(3)作为蛋白孔道复合物(The Permeability Transition Pore Complex, PTPC)的成分之一促进细胞凋亡;(4)调节类固醇的合成。1999 年,Galiegue 等通过酵母双杂交(the yeast two hybrid system)的方法得到了一个与 PBR 特异性结合的蛋白质,并将其命名为 PRAX-1。PRAX-1 是一个大的糖基化和磷酸化蛋白质,富含脯氨酸,谷氨酸和亮氨酸,其平均分子量为 240kDa。PRAX-1 基因序列分析结果显示,它是由 1853 个氨基酸组成的含有疏水结构域的亲水蛋白质,没有典型的跨膜的结构域,也没有疏水片段的前导序列。其二级结构包含 3 个富含脯氨酸结构域,3 个位于蛋白 N 末端的亮氨酸拉链基序和一个 SH3 结构域。编码人类 PRAX-1 的基因长为 7.5kb,位于第 17 号染色体的长臂的 q22-q23 区域^[3]。

2 PRAX-1 的功能与表达

2.1 PRAX-1 的功能

2.1.1 二聚化 PBR:PRAX-1 最重要的功能就是使 PBR 发生二聚化,从而使 PBR 具备某些特定功能。

对于 PRAX-1 的作用机制,主要解释是 PRAX-1 分子结

构上表达多个蛋白质和蛋白质相互作用的基序,可能扮演了接头分子的角色,募集不同靶分子靠近 PBR,这样使得 PBR 能与细胞质或细胞核效应分子相互作用。

为了确定 PRAX-1 与 PBR 结合的结构域,有研究者用 PRAX-1 不同的部分在酵母双杂交系统考察其结合 PBR 的能力。被考查的几个部分分别是:PRAX-1 的 N 末端 206 个氨基酸(含有一个 SH3 结构域和一个富含脯氨酸结构域);C 末端 205 个氨基酸(起始于 SH3 结构域的内部,包含了一个富含脯氨酸结构域);C 末端 118 个氨基酸(包含一个富含脯氨酸结构域)。最终结果是,N 末端 206 个氨基酸,C 末端 205 个氨基酸及 C 末端 118 个氨基酸的片段都没有能够在双杂交实验中得到阳性结果。这些结构都不能够单独结合 PBR。这就说明了在与 PBR 结合时,不仅需要 SH3 结构域和富含脯氨酸结构域同时存在^[4,5],同时,还需要两个长约 25 个氨基酸残基的重复基序辅助。这两个基序位于 SH3 结构域和富含脯氨酸结构域的侧面,相隔约 100 个残基。而且,这两个基序正是 PRAX-1 中最具亲水性和酸性的部分,它们的 PI 值分别是 3.5 和 3.7,它们之间的距离对于 PRAX-1 与 PBR 的结合也很关键。总而言之,PRAX-1 结构中一些特殊的部分(SH3 结构域,富含脯氨酸结构域和两个重复基序)对于它和 PBR 的连接起着很重要的作用。

通过这些特殊的结构,PRAX-1 在 PBR 上方以 1:2 的比例与其交连并相互作用,使 PBR 处在 4-6 个分子的聚簇中^[6],这就使 PRAX-1 通过和 PBR 的 c 末端的结合可以覆盖整个 PBR 分子。与 PBR 结合后,PRAX-1 就可以参与调节 PBR 的某些功能。

2.1.2 参与细胞凋亡:为了研究 PBR 及 PRAX-1 在 UV 分子介导的细胞凋亡的早期的作用,人们比较了 PBR 转染的 Jurkat 细胞和野生型的全无 PBR 的 Jurkat 细胞的中波紫外线光谱。结果表明在 PBR 转染过的 Jurkat 细胞中对细胞凋亡更有抵抗力,而且表现出线粒体跨膜电位缓慢下降,超氧负离子产生量的减少,以及细胞凋亡蛋白酶 CPP3 活性减弱。由于 PBR 转染过的 Jurkat 细胞上高表达 PRAX-1,所以认为 PRAX-1 可能

作者简介:徐涛,(1985-),男,临床医学七年制 03 级学员。

E-mail:stone3724@gmail.com

(收稿日期:2006-03-30 接受日期:2006-05-23)

做为一个凋亡相关蛋白辅助 PBR 从而进一步调节 UV 介导的细胞凋亡的信号^[7,9]

2.1.3 与肿瘤恶性程度有关:PRAX-1 的水平还与肿瘤的恶性程度有关,许多肿瘤细胞(如卵巢癌,结肠癌,结肠腺癌)中的 PBR 及 PRAX-1 的量均较正常细胞多。甚至在某些正常细胞中根本没有 PRAX-1 的表达,而在肿瘤细胞中却得到了很高的表达^[9]。

2.1.4 形成 PTPC 复合物:PTPC(The Permeability Transition Pore Complex)是线粒体内膜和外膜接触点处存在的一种蛋白性孔道复合物^[10],目前对其分子组成研究得还不太清楚,普遍认为它是由一些蛋白质组成的复合体,包括电压依赖阴离子通道蛋白(VDAC)、腺苷酸转位体(ANT)、亲环蛋白 D(cyclophilin D)、外周型苯二氮卓受体(PBR),PBR 相关蛋白 PRAX-1 以及 Bcl-2 家族一些成员(Bcl-2、Bad 和 Bax)等。它主要作用可能是通过诱导 PBR 过表达来调控细胞凋亡,有人认为可以将该特性用于肿瘤的治疗^[11]。

2.1.5 抗抑郁:PRAX-1 对于精神疾病有一定的调节作用^[8]。PRAX-1 mRNA 在边缘叶中的定位表明 PRAX-1 可能在中枢神经系统的病理生理过程中扮演一个很重要的角色。

为考察对于精神紊乱,焦虑症,精神分裂症和抑郁症的治疗,Chardenot 等将重点放在海马这个结构并选择了被认为最有效的治疗方法——重复的电惊厥休克。发现重复给予电刺激可以增加 PRAX-1 mRNA 在齿状回的表达,且效果与作用的时间有关。

为证明这个增量表达与电休克的抗抑郁作用的关系,他们又使用了其他抗抑郁药来进行实验。发现长期使用镇定剂氟哌啶醇(aloperidin)治疗后(21 天),PRAX-1 mRNA 在齿状回有增量的表达。使用其他几种抗抑郁药,如氟西汀(fluoxetine)、米帕明(imipramine)、异丙异烟肼(iproniazide)和反苯环丙胺(tranylcypromine)等,也可达到相同的效果。

但如果给药的时间较短(小于 14 天),都不能收到预期的效果。由此可见,抗抑郁药对 PRAX-1 mRNA 的增量调节必须通过长时间的作用才可以体现出来。

通过电刺激或是抗抑郁药作用这两种方法都可以使得大鼠中枢神经系统内 PRAX-1 mRNA 获得增量调节。说明 PRAX-1 的变化可能与精神疾病相关,它对松果体的内分泌调节就是一个证明。松果体分泌的激素可以调节很多生理过程的节律,而当人出现各类精神紊乱(如季节性情感障碍,双相性精神障碍,单极抑郁症等)的时候,这些分泌途径就会发生改变^[12]。

虽然现在认为 PRAX-1 可以用于抑郁症的治疗,但是它的具体作用机制仍然不很清楚,现在认为可能与大鼠体内的 RIM-BP 这个与人的 PRAX-1 有 69%同源性的蛋白的功能类似。RIM-BP 是一个与 RIM 特异结合的蛋白质,可能是 Rab3 的一个效应蛋白,一个胞突接合处的 G 蛋白^[13]。RIM-BP 作为与活化区域紧密相连的突触前细胞间质,主要起到作为一个细胞骨架的组织作用。

2.2 PRAX-1 的表达

2.2.1 PRAX-1 的基因表达:使用人 PRAX-1 的片断作为引物,对从大鼠,小鼠脑中取得的 cDNA 作 PCR 反应,得到大鼠序

列的 83%,小鼠序列的 81%与人的 PRAX-1 序列同源。在蛋白质一级结构上,它们显示出了 90%的同源性。这提示可以用人的 PRAX-1 片断作为探针来分析大鼠和小鼠的 PRAX-1 的 mRNA 的表达。通过原位杂交法得到了 PRAX-1 mRNA 在大鼠脑中的定位;通过 Northern blot 杂交实验发现,从大鼠,小鼠脑中取得的长约 7.5kb 的 mRNA 无论从转录物的分布还是大小都与人的 PRAX-1 一致^[14]。

2.2.2 PRAX-1 的分子表达:通过共聚焦显微镜和荧光免疫检验法对淋巴瘤细胞株 U937 的研究,发现 PRAX-1 主要出现在胞质中,且主要集中在线粒体的质膜上,在细胞核中几乎没有。在研究其在线粒体上的表达时还发现,在 Jurket 细胞线粒体上,PRAX-1 只有很少的表达,而这种线粒体,恰恰是人类细胞中无 PBR 的一种线粒体^[15],所以怀疑可能 PRAX-1 在细胞上的定位是由 PBR 所驱使的。因此,人们又用 PBR 转染过的 Jurket 细胞线粒体进行实验,发现 PRAX-1 得到了高表达。这说明了 PRAX-1 在线粒体上的定位依赖于 PBR。

2.2.3 PRAX-1 在组织器官的表达:运用 Northern Blot 在胎儿组织中研究 PRAX-1 的分布,发现表达水平最高的是胎儿的脑,然后是心脏,肾脏和胸腺。在脑的不同区域中,颞叶和豆状核表达 PRAX-1 的水平最高,其次是扁桃体,尾状核,大脑皮层,枕叶和额叶,而在小脑,海马,黑质,丘脑中则表达较少。在延髓和脊髓中则没有发现表达。

3 展望

综上所述,PRAX-1 作为与 PBR 特异性结合的一个蛋白。除了通过二聚化辅助 PBR 实现调控细胞呼吸、增殖、分化、凋亡等功能之外,还具有其特有的功能——抗抑郁作用。这些生理功能都将是研究的热点,对这些热点的研究不仅可以进一步了解该蛋白质其结构与功能的关系提供一个很好的理论依据,从而丰富和加深对蛋白质的理解,同时我们对 PRAX-1 的研究还可以了解它在细胞功能调节中的作用,进而可以应用到人类医学上。例如:对 PRAX-1 的深入研究可以进一步了解其与恶性肿瘤之间的关系,其表达的增减和肿瘤恶性程度的高低之间的关系将更加明确,由此我们可以通过对 PRAX-1 含量的测定完成对肿瘤恶性程度的判断。另外由于它在抗抑郁治疗中的重要作用,我们可以将其作为药物来进行研究,同时也可以将其作为药物作用后的疗效指标,如果它有增量的表达,则可以说明药物的治疗效果确实。

同时,有研究表明,PBR/PRAX-1 的组合似乎并不是唯一的。由于它和 PBR 之间这种错综复杂的关系,对 PRAX-1 展开进一步的研究也有利于我们更好的了解 PBR 的结构与功能,并对它们共同参与构成的蛋白性孔道复合物 PTPC 在细胞凋亡中所起到的作用有一个更深刻的认识。细胞凋亡是一把双刃剑。一方面是机体发育的正常过程,另一方面如果细胞凋亡过速,则会导致慢性退行性病变;如果细胞不凋亡就有可能导致癌变或对化疗的不敏感。进一步研究 PRAX-1 在细胞凋亡中的作用,有助于深入了解细胞凋亡的机制与对疾病的防治。

(下转第 89 页)

- [22] 强永乾,郭佑民,鱼博浪,等.恒定均匀磁场对肿瘤细胞凋亡 Bel-2 及 Bax 蛋白表达的研究.西安医科大学学报,2000,21(2):100-103
- [23] 陈文芳,齐浩,孙润广.磁场对环磷酰胺杀伤人白血病细胞 K562 协同作用的研究初报[J].生物磁学,2005,5(1):9-12
- [24] 陶凯雄,陈道达,田源,等.阿霉素磁性蛋白微球联合外磁场对恶性肿瘤细胞的毒性试验[J].生物医学工程杂志,2001,18(2):223-226
- [25] Hannan C J, Liang Y, Allison J D, et al. Chemotherapy of human carcinosarcoma no grafts during pulsed magnetic field exposure. *Anticancer Res*, 1994,14(4A):1521-1524
- [26] 关薇华,高佩琦,许艳.恒定磁场对大鼠脑缺血再灌注损伤保护作用的研究[J].中华物理医学与康复杂志,2003,25(1):11-14
- [27] 沙建慧,杨中万,夏文春,等.不均匀恒磁场对小鼠血栓形成及血浆 t-PA 等的影响[J].中华理疗杂志,2001,24(6):325-327
- [28] 关薇华,陈丽娜,宋晓燕,等.恒定磁场对脑缺血再灌注大鼠血液流变学指标及红细胞膜流动性影响的研究[J].中国血液流变学杂志,2002,12(3):169-171
- [29] 王益民,安蔚瑾,王津生,等.恒磁场对血沉的影响[J].中华理疗杂志,1999,6(22):335
- [30] 文峻,谢恒坤,钟力生,等.脉冲电场和磁场对高血粘和高凝血影响的比较研究[J].生物物理学报,2001,4(17):736-740
- [31] Mayrovitz HN, Groseclose EE, King D. No effect of 85 mT permanent magnets on laser-Doppler measured blood flow response to inspiratory gasps[J]. *Bioelectromagnetics*. 2005 May; 26(4):331-335
- [32] Harvey N. Mayrovitz Edey E. Groseclose, et al. Pilla. Effects of permanent magnets on resting skin blood perfusion in healthy persons assessed by laser doppler flowmetry and imaging[J]. *Bioelectromagnetics*, 2001,22:494-502
- [33] 刘方平,吴全义,陆任云,等.稳恒磁场对小鼠肝组织 GSH-Px 活性及 MDA 含量的影响[J].实用老年医学,2004,18(1):28-29
- [34] 赵大源,付妍,李红丽.磁场的穴位刺激对家兔自由基代谢的影响[J].中华医学物理学杂志,2000,17(1):59-60
- [35] 李俊峡,张卓立,赵勇军.恒定均匀磁场对异丙肾上腺素引起的大鼠心肌损伤的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2001,23:235-236
- [36] 韩丽莎,王芳,韩利.磁场对小鼠一氧化氮生成及生长发育的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2001,23:35-37
- [37] 龙英,关志成,蔡国平,等.电磁刺激对成骨样细胞 UMR-106 DNA 合成的作用[J].清华大学学报,2000,40(3):15-19
- [38] 李丽荣,罗二平,申广浩,等.低强度脉冲电磁场对大鼠成骨细胞的影响[J].第四军医大学学报,2005,26(6):571-573
- [39] 赵桂枝,陈华,林珠,等.恒磁场对人牙周膜成纤维细胞 DNA 代谢的影响[J].中华口腔医学杂志,1994,29(2):75-79
- [40] 董良,黄玲珍,陈彦田,等.极低频磁场对人肝癌细胞生长、代谢及细胞周期的影响[J].生物磁学,2005,3(5):1-6
- [41] 端礼荣,邢光伟,吴全义.稳恒磁场对大鼠胚胎肢芽细胞发育毒性的研究[J].中国职业医学,2001,3(28):11-12
- [42] Wertheimer N, Leeper E. Possible effects blankets and heated waterbeds on fetal development[J]. *Bioelectromagnetics*, 1986,7:13-22
- [43] 端礼荣,唐艳玲,刘丽群,等.稳恒磁场强度对小鼠骨髓细胞和精母细胞的遗传效应研究[J].中国工业医学杂志,2003,3(16):169-170

(上接第 78 页)

参考文献

- [1] Casellas P, Galiegue S, Basile AS. PBR and mitochondrial function[J]. *Neurochem Int*, 2002,40(6):475-86
- [2] Olson JM, Junck L, Young AB, et al. Isoquinoline and peripheral-type benzodiazepine binding in gliomas: implications for diagnostic imaging[J]. *Cancer Res*, 1988,48(20):5837-5841
- [3] Kozak M. the scanning model for translation: an update[J]. *J Cell Biol*. 1989,108(2):229-41
- [4] Galiegue S, Jbilo O, Combes T, et al. Cloning and Characterization of PRAX-1[J]. *Biol Chem*, 1999,274(5):2938-2952
- [5] Carayon P, Portier M, Dussosoy D, et al. Involvement of peripheral benzodiazepine receptors in the protection of hematopoietic cells against oxygen radical damage[J]. *Blood*, 1996,87(8):3170-3178
- [6] Papadopoulos V, Boujrad N, Ikononovic MD, et al. Topography of the Leydig cell mitochondrial peripheral-type benzodiazepine receptor[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1994,104(1):R5-9
- [7] Stoeber PE, Carayon P, Casellas P, et al. Transient protection by peripheral benzodiazepine receptors during the early events of ultraviolet light-induced apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2001,8(7):747-753
- [8] Chardenot P, Roubert C, Galiegue S, et al. Expression Profile and Up-Regulation of Prax-1 mRNA by Antidepressant Treatment in the Rat Brain[J]. *Mol Pharmacol*, 2002,62(6):1314-20
- [9] Costantini P, Jacotot E, Decaudin D, et al. Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000,92:1042-53
- [10] Castedo M, Perfettini JL, Kroemer G. Mitochondrial apoptosis and the peripheral benzodiazepine receptor a novel target for viral and pharmacological manipulation[J]. *J Exp Med*, 2002,196:1121-1125
- [11] Decaudin D. Peripheral benzodiazepine receptor and its clinical targeting [J]. *Anticancer Drugs*, 2004,15(8):737-45
- [12] Pacchierotti C, Iapichino S, Bossini L, et al. Melatonin in psychiatric disorders: a review on the melatonin involvement in psychiatry[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2001,22:18-32
- [13] Wang Y, Sugita S, and Sudhof TC. The RIM/NIM family of neuronal C2 domain proteins[J]. *J Biol Chem*, 2000,275:20033-20044
- [14] Feng S, Chen JK, Yu H, et al. Two binding orientations for peptides to the Src SH3 domain: development of a general model for SH3-ligand interactions[J]. *Science*, 1994,266(5188):1241-7
- [15] Mayer BJ, Eck MJ. SH3 Domains: Minding your p's and q's[J]. *Curr. Biol*, 1995,5:364-367