

腺苷酸激酶与细胞凋亡*

赖秋安 胡建军 孙久荣**

(北京大学生命科学院, 北京 100871)

摘要 腺苷酸激酶 (AK) 在维持细胞能量平衡中起着重要作用, 新近又发现它与细胞凋亡有着密切的关系. 在凋亡过程中, AK2 从线粒体膜间释放到胞浆是一种非常普遍的现象, 但其在细胞凋亡中作用仍很不清楚. 综述了近年对腺苷酸激酶的研究进展, 探讨了腺苷酸激酶在细胞凋亡程序中所扮演的角色.

关键词 凋亡, 腺苷酸激酶, 线粒体

学科分类号 Q25, Q555

腺苷酸激酶 (adenylate kinase, AK) 是生物体内普遍存在的一种单体酶, 广泛存在于微生物、植物和动物体内. 几十年来, 对 AK 的研究大都集中在它对维持生物体内的能量供应平衡所起的巨大作用, 而对其非酶生物学的活性探讨甚少. 近年来, 人们在细胞凋亡过程中发现有 AK 的迁移和酶活的变化^[1,2]. 本文拟就 AK 的研究进展及其与细胞凋亡的关系作一综述.

1 腺苷酸激酶

AK 有 5 种同工酶: 来源于大肠杆菌 (*E. coli*) 的 Ake, 来源于酵母 (yeast) 的 Aky 以及来源于脊椎动物的 AK1、AK2 和 AK3. 后三种酶是依其在胞内所处的位置不同而划分的, 其中 AK1 居细胞质的胞浆中; AK2 位于线粒体的内外膜间, 但在有些细胞的胞浆中也可找到少数 AK2; AK3 位于线粒体的基质中. 最近, Yoneda 等从大鼠和小鼠的大脑中克隆分离出第四种腺苷酸激酶 AK4: 序列分析表明大鼠 AK4 与人 AK3 的同源性 (89.2%) 高于与鼠 AK3 的同源性 (54.7%); 由于 AK4 序列中含有一个线粒体能量转移标志, 推测 AK4 也定位于线粒体.

所有的 AK 酶都能催化如下的反应: $MgNTP^{2-} + AMP^{2-} \rightleftharpoons MgNDP^{-} + ADP^{3-}$ ($N = A, G$), 以维持生物体内能荷的稳定. 除 AK3 外所有的 AK 同工酶都是以 ATP 作为磷酸根供体, 只有 AK3 是以 GTP 作为磷酸根供体, 推测 AK4 也是以 GTP 作为磷酸根供体, 但尚未得到实验的证实.

2 腺苷酸激酶与细胞凋亡

细胞凋亡 (apoptosis) 又称细胞程序化死亡

(programmed cell death, PCD), 是多细胞生物调控机体发育、维护内环境稳定、由基因控制的细胞主动死亡过程. 细胞凋亡是单一性与多样性的矛盾统一体, 其单一性表现为几乎所有凋亡细胞的形态学和生化改变都是一致的. 但同时, 在不同环境或不同刺激的情况下, 细胞从凋亡程序的启动到凋亡发生之间的过程又是不同的, 因而细胞凋亡具有多样性. 这一多样性实质上即为凋亡信号转导通路的多样性. 凋亡的单一性使人们清楚地认识到凋亡是多细胞生物体的一种普遍现象, 无论是组织的发育、机体内环境的稳定, 抑或是疾病的发病过程, 均有细胞凋亡的参与. 多样性使人们认识到凋亡的发生机制非常复杂且被精确调控, 对这一机制的深入认识将是人为地调控细胞凋亡过程得以实现的基础. 因此, 细胞凋亡信号的转导机制成为目前生命科学界研究的热点之一.

1998 年, Single 及其同事^[2]在检测细胞凋亡过程细胞色素 c 的释放时首先发现 AK 与细胞色素 c 一起在凋亡细胞的胞液中积累, 但并不清楚积累的是哪种同工酶. 后来, 以 Jurkat 细胞为研究材料^[2], 发现以鬼臼亚乙苷 (etoposide) 诱导凋亡的细胞中细胞色素 c 与 AK2 共同转移到胞浆中, 而 AK1 和 AK3 均未发生迁移. 进一步研究发现致凋亡因子 Bax 可导致无细胞系中线粒体膜间 AK 的释放^[3], 且释放的量与 Bax 的浓度成正相关. 此外,

* “973” 重大基础研究项目 “细胞重大生命活动的基础与应用研究” 基金资助 (G1999053905).

** 通讯联系人.

Tel: 010-62752871, E-mail: SJR@pku.edu.cn

收稿日期: 2000-10-17, 接受日期: 2000-12-14

TBT (tetrabutyl titanate) 处理 Jurkat 细胞发现, 低浓度的 ATP 时细胞以坏死的方式死亡; 而高浓度的 ATP 时则以凋亡的方式死亡, 并且伴随有 AK 和细胞色素 c 从线粒体膜间的释放^[4]. 现已证实, AK2 与细胞色素 c 的共释放是细胞凋亡中的一种普遍现象. 发育生物学的研究也证实, 出生后大鼠大脑中的 AK1 和 AK3 是逐渐增加的, 而 AK2 大量存在于胚胎时期的大脑中, 成年鼠中则很少存在. 这可能与胚胎时期基于发育的需要大量神经元凋亡相吻合^[5].

3 AK 可能在细胞凋亡中所扮演的角色

作为一种蛋白激酶, AK 在生物体处于低能量水平时, 催化 AMP 生成 ADP, 生成的 ADP 通过氧化磷酸化等被氧化成体内能量的直接供应者 ATP, 以保证生命活动的正常运转. 从这个角度推测, AK 的释放可能影响 ADP、ATP 或 dATP 的水平. 它们与核苷酸还原酶相关, 进而通过凋亡复合物介导了凋亡过程^[2]. 在中枢神经系统中, ATP 和 GTP 不仅作为能量来源, 在突触中还被视为嘌呤类神经递质或神经调质. 此外, 嘌呤也可作为营养因子调节神经系统的发育、增殖, 胶质细胞和毛细管内皮细胞的凋亡及神经系统的可塑性. 因此, AK 可能以一种神经递质或神经调质的身份, 通过影响生物体内的 ATP (或 GTP)、ADP 水平, 从而间接参与了细胞生命活动乃至凋亡过程.

AK 可作为一种 RNA-结合蛋白参与某种调控机制. 从烟草叶和组织培养物中提取含有多种 AK 同工酶的提取物, 不能与阴离子交换树脂 Mono Q 结合, 而用 RNA 酶对该提取物进行处理后又恢复了提取物与 Mono Q 的结合能力, 说明 AK 与 RNA 的聚集导致了不结合. 同样, *C. rubrum* 中的 AK 抽提物经 RNA 酶处理后也恢复它与阴离子柱的结合, 而用蔗糖水解酶、脂酶和 DNA 酶处理则无此效果; 并且 AK 的 RNA-结合活性依赖植物的年龄、光照和生长规律, 这反映了 AK 在某些调节机制中的非酶活性. 体外研究表明, AK 可作为一种 RNA-结合蛋白, 并且与 RNA-结合的 AK 酶可能参与某种调控机制; 同为核苷酸结合蛋白的二磷酸核苷激酶 (NDK) 的离体研究表明, NDK 可作为致癌基因 *c-myc* 的转录因子. 因此, 细胞凋亡中 AK 可能是以一种 RNA-结合的非酶活性蛋白的身份出现, 释放到胞浆中与 RNA 结合后调节与凋亡相关基因的转录表达, 进而介导了凋亡后续过程的

发生.

AK 与生物膜离子通道活性相关. ATP 敏感的钾通道 (K_{ATP}) 在 100 $\mu\text{mol/L}$ ATP 时即被抑制, 而在加入 100 $\mu\text{mol/L}$ AMP 后该通道活性逐渐恢复; 当不含有 ATP 时, 单独的 AMP 并不能改变 K_{ATP} 的行为. K_{ATP} 依赖 AMP 的开放需要 MgCl_2 和能水解的 ATP 的参与, 缺少 Mg^{2+} 或加入 ATP γS 均不能恢复 K_{ATP} 的通透性. 上述结果表明, AMP 和 ATP 可能是作为某一反应的底物. 如果事先加入 Ap5A-AK 特异性抑制剂, K_{ATP} 的通透性也不能恢复, 表明 AK 在 K_{ATP} 的通透性恢复中起了重要作用. 因此, 当 ATP 抑制 K_{ATP} 的通道活性时, 加入 AMP, 则 AK 以二者为底物, 催化生成 ADP, 并恢复了 K_{ATP} 的通道活性. 此处的 ADP 可视为第二信使, 将 AK 的活性传递给 K_{ATP} . 其他的一些生物物理和生物化学数据也表明 AK 能调控离子通道的开放. 由于 K_{ATP} 能将胞内的代谢事件转化为生物膜电势的改变进而介导细胞内信号的传递, 因此, AK 可能执行或参与凋亡细胞过程的信号传递.

细胞凋亡是一个十分复杂的过程, 涉及到众多因子的参与, 各种信号因子又相互联系, 组成一条条信号传导通路. 同时各种通路又相互交叉, 从而形成一个异常复杂的信号传导网络. 作为凋亡中新近才发现并引起注意的蛋白质——AK, 对它的研究还很不充分. 一方面, 对该蛋白质本身的一些生物学活性, 尤其是其非酶活性, 仍了解不多; 另一方面, AK 在细胞凋亡中的地位与作用的了解更是甚少, 对引起 AK 释放的原因、AK 释放的后续过程都知之甚少. 作为一种调节胞内能荷水平的重要激酶, 有理由相信它与细胞的正常死亡 (凋亡) 有着密切的联系. AK 在细胞凋亡过程中的角色与功能的完全揭示, 无疑将对了解细胞凋亡的调控机制进而人工调控细胞凋亡具有重大意义.

参 考 文 献

- 1 Single B, Leist M, Nicotera P. Simultaneous release of adenylate kinase and cytochrome c in cell death. *Cell Death Differ*, 1998, **5**: 1001~ 1003
- 2 Kohler C, Gahn A, Noma T, *et al.* Release of adenylate kinase from the mitochondrial intermembrane space during apoptosis. *FEBS Lett*, 1999, **447** (1): 10~ 12
- 3 Kluck R M, Esposti M D, Perking G, *et al.* The pro-apoptotic proteins, Bid and Bax, cause a limited permeabilization of the mitochondrial outer membrane that is enhanced by cytosol. *J Cell Biol*, 1999, **147** (4): 809~ 822

- 4 Stridh H, Fava E, Single B, *et al.* Tributyltin-induced apoptosis requires glycolytic adenosine triphosphate production. *Chem Res Toxicol*, 1999, **12** (10): 874~ 882
- 5 Inouye S, Yamada Y, Miura K, *et al.* Distribution and developmental changes and adenylate kinase isozymes in the rat brain: localization of adenylate kinase 1 in the olfactory bulb. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **254**: 618~ 622

Adenylate Kinase and Cellular Apoptosis^{*}

LAI Qiu-An, HU Jian-Jun, SUN Jiu-Rong^{**}

(Peking University, College of Life Sciences, Beijing 100871, China)

Abstract As an important kinase in the organism, adenylate kinase (AK) not only plays a crucial role in keeping the energy balance, but also takes part in the procedure of apoptosis. In apoptotic cells the release of AK2 from mitochondrial intermembrane to the cytosol is very common, but its function is still not clear. The latest research of AK in apoptosis and the possible role of AK during apoptosis are reviewed.

Key words apoptosis, adenylate kinase (AK), mitochondria

^{*} This work was supported by a grant from the Special Fund for Major State Basic Research of China (G1999053905).

^{**} Corresponding author. Tel: 86-10-62752871, E-mail: SJR@pku.edu.cn

Received: October 17, 2000 Accepted: December 14, 2000