

①

## MAS 受体与 AT1 受体的相互作用

沈宁 综述 刘建 审校

(四川省泸州医学院附属医院肾病内科, 四川 泸州 646000)

**[摘要]** RAS 的 2 个重要成员 Ang-(1-7) 和血管紧张素 II(Ang II) 主要作用于 MAS 受体和 AT1 受体发挥作用。Ang-(1-7) 和 Ang II 之间存在着复杂的相互作用, 两者的受体在细胞和组织中相互作用, 其可能的机制之一是受体的寡聚化。

**[关键词]** MAS 受体; AT1 受体; RAS 系统

**[中图分类号]** R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2006)04-0347-04

## Interactions between receptor MAS and receptor AT1

SHEN Ning, LIU Jian

(Affiliated nephropathy medicine of Luzhou Medical College, Luzhou Sichuan 646000, China)

**[Abstract]** Ang-(1-7) and Ang II are 2 important members of RAS which play roles through MAS receptor and AT1 receptor. There are complicated interactions between Ang-(1-7) and Ang II, but the mechanism involved has not been completely elucidated. The 2 receptors interaction in cells and tissues which one of the possible mechanisms is the oligomerization of receptors.

**[Key words]** receptor MAS; receptor AT1; renin angiotensin system

[*Int J Pathol Clin Med*, 2006, 26(4):0347-04]

RAS 系统在调控血压、体液和电解质平衡中起重要作用, Ang-(1-7) 和 Ang II 是 RAS 系统中重要的生物学活性分子。Ang II 主要通过 AT1 受体结合产生促细胞肥大, 促心肌及血管重构, 促血管收缩以及促进水钠滞留等效应; Ang-(1-7) 在抗利尿, 致动脉环的松弛以及抗细胞增殖等方面能拮抗 Ang II 的作用<sup>[1,2]</sup>。张卉等<sup>[3]</sup>研究证明 Ang-(1-7) 可在 mRNA 水平抑制 Ang II 诱导 ECV304 细胞组织因子(TF)表达增加的作用, 提示 Ang-(1-7) 不仅在调节血压及细胞增殖等方面与 Ang II 有着拮抗作用, 还共同调节着凝血与抗凝系统之间的平衡。Santos 等<sup>[4]</sup>证实 Ang-(1-7) 是 mas 原癌基因编码的 MAS 受体的内源性配体, 它通过 MAS 介导了许多与 AngII 相拮抗的作用。

Ambroz 等<sup>[5]</sup>证明在表达 AT1 受体的 Cos-1 细胞转染 mas 后, 细胞对 Ang II 刺激产生的细胞内钙离子的升高的作用会随着转染而加强。Pinheiro

等<sup>[6]</sup>提出非肽类 AVE0991 在小鼠肾脏中是 MAS 受体的激动剂, 该组织中 MAS 受体与 AVE0991 作用时有与 AT1/AT2 相关的机制参与应答。Wolf 等<sup>[7]</sup>将 c-mas 基因转染于近曲小管的上皮细胞, 使 Ang II 的促细胞肥大作用转变为促增殖作用, 说明在 mas 原癌基因表达之后影响了 Ang II 受体的信号转导。Walther 等<sup>[8]</sup>发现在灭活了 mas 原癌基因的小鼠中, 神经的 AT1 受体的信号通路发生了改变。并且这些小鼠在心率和血压调控中也表现出性别特异性的改变。另外由于 Ang-(1-7) 的一些作用也被 AT1 或者 AT2 拮抗剂阻断<sup>[9,10]</sup>, 可能表示 Ang-(1-7) 通过 MAS 与 AT1 和 AT2 起间接的相互作用。由此引发了关于 MAS 受体和 AT1 受体之间存在相互作用的研究。

### 1 MAS 受体和 AT1 受体的结构特点

mas 原癌基因最初是从人表皮样癌 DNA 中分离出来的, 它能使裸小鼠 NIH3T3 细胞发生肿瘤。

mas 原癌基因编码一种 MAS 受体,被证实为视紫质样的 A 类的 GPCR 亚家族<sup>[11]</sup>。该蛋白的预测氨基酸序列中,含有 G 蛋白偶联受体(GPCR)共有的保守的三级结构即 7 个疏水跨膜结构域,并且 MAS 受体的 C 末端上有与 AT1 受体和 B2 受体等 GPCRs 相似的潜在的核定位序列<sup>[11,12]</sup>。Santos 等<sup>[4]</sup>在小鼠的肾组织切片中运用放射自显影的方法证实 MAS 是 Ang-(1-7)的功能性受体。MAS 受体在鼠肾,心,脑和睾丸中都有所表达<sup>[13~15]</sup>,但是 Ferreira 等<sup>[16]</sup>将 Ang-(1-7)的作用分为由 MAS 介导的和非 MAS 介导的 2 种,由于 MAS 受体似乎参与了 Ang-(1-7)在抗血管平滑肌细胞(ASMC)增殖,抗利尿以及参与血管扩张等与 Ang II 相拮抗的作用,所以认为 MAS 受体在 Ang-(1-7)拮抗 Ang II 的过程中扮演了重要角色。

AT1 受体是 Ang II 的主要功能性受体,由 359 个氨基酸组成,是一种拥有典型的 7 个跨膜节段的 G 蛋白偶联受体,鼠和人的 AT1 受体的 C 末段都有很好的保守性,有三个一组的潜在的 PKC 磷酸化位点,而且这些残基能在 Ang II 和 PKC 的作用下磷酸化激活。在肾小管、血管、肾上腺、脑、肝、心都有分布,分为 AT1a 与 AT1b 二亚型。AT1 受体介导的效应包括血管收缩、释放激素、调节液体量和促进细胞增殖。AT1 受体在胞外区有多个 N-糖基化位点,其第二和第三胞内环与 G 蛋白偶联,通过 Gq 激活磷脂酶 C(PLC)促进 1,4,5-三磷酸肌醇(IP3)和二酰甘油(DG)产生及钙离子代谢和蛋白激酶 C(PKC)的激活,完成 Ang II 收缩血管,促进生长的功能。

## 2 MAS 与 AT1 存在相互作用

2.1 细胞实验 Kostenis 等<sup>[17]</sup>在 CHO-K1 细胞中转染 MAS 和 AT1 的 cDNA,发现在同时表达 MAS 受体和 AT1 受体的时候,Ang II 使细胞内 $[Ca]^{2+}$ 浓度增加的效应削弱,即提高 $[Ca]^{2+}$ 的最大值有所下降;但是这个结论与 Ambroz 等<sup>[5]</sup>之前证明在已经表达 AT1 受体的 Cos-1 细胞转染了 mas 后,细胞对 Ang II 刺激而产生的细胞内 $[Ca]^{2+}$ 升高的作用会随着转染而加强是相矛盾的。在 Kostenis 等<sup>[17]</sup>的实验中,Ang II 导致磷酸肌醇产生的作用,在 MAS 受体表达的同时也被削弱了。 $[^3H]$ Ang II 对 AT1 的结合增加,却对只表达 MAS 受体的细胞没有特异性结合,说明 MAS 受体和 AT1 受体一起表达引起了 AT1 受体与 Ang II 结合能力的增加。其可能原因是异源二聚体细胞表面的稳定状态发生了改变,从而导致了

AT1 受体的信号转导特征发生改变。由于 AT1 和 MAS 组成的异源二聚体对 AT1 信号转导的限制,造成了 AT1 在细胞表面表达增加,而其功能下降。在 HEK293 细胞上表达 MAS-Renilla 荧光素酶和 AT1-eYFP,运用生物发光共振能量转化技术(BRET)发现两者之间存在着强的能量转移,并且用 MAS-G<sub>α11</sub>和 AT1-eYFP 转染 HEK293 细胞,用抗 eYFP 的血清检测造成了 MAS-G<sub>α11</sub>的共免疫沉淀,说明 2 个 GPCRs 形成了一个构成性的寡聚复合体,并且 MAS 是 AT1 的生理性拮抗剂。

Canals 等<sup>[11]</sup>提出 MAS 刺激 G 蛋白 G<sub>α11</sub>/G<sub>αq</sub>之后激活其下游的 PKC,PKC 磷酸化 AT1 受体使其对 $[^3H]$ Ang II 结合的能力增加,而且这个效应是细胞类型依赖的。他们在 HEK293 细胞中转染感兴趣的受体 cDNA,使其表达 c-myc-AT1-CFP(CFP:蓝色荧光蛋白)和 VSV-G-Mas-YFP(YFP:黄色荧光蛋白)。同时表达这两种受体的时候,MAS 可以以配体依赖的方式将大量的 $[^{35}S]$ GTP $\gamma$ S 载上 G 蛋白 G<sub>α11</sub>(磷脂酶 C $\beta$ -联系的 G 蛋白),之后其下游的 PKC 激活,磷酸化 AT1 受体 C 末端的磷酸化位点。PKC 介导的磷酸化和 AT1 受体功能的下降是相联系的,所以,MAS 和 AT1 共同表达虽然使结合 $[^3H]$ Ang II 的能力增加,但是却造成 Ang II 增加 $[Ca^{2+}]$ 内流和磷酸肌醇聚积的能力下降。

## 2.2 组织实验

2.2.1 脑组织 Oliver 等<sup>[18]</sup>在小鼠的大脑切片中检测基底外侧核的场电位振幅的变化。在野生型小鼠中,Ang II 引起基底外侧核的场电位振幅显著增加。在 mas 基因敲除的鼠中,Ang II 引起的场电位的振幅下降了 10.48%,但运用氯沙坦之后,造成场电位振幅上升,这个效应和在野生型鼠中同时给予 Ang II 和氯沙坦后产生的效应是相同的,所以证明 MAS 受体并不影响 AT2 受体。但是在 mas 基因敲除的鼠中同时给予 Ang II 和 PD123319 之后引起了场电位振幅的下降,说明 MAS 受体影响了 AT1 受体的作用。此外,以前的研究证实在海马、齿状回、杏仁核,Ang II 抑制了长程增强效应的诱导,并且这种抑制效应是通过 AT1 介导的。相反,在 MAS 基因缺陷的大鼠中,海马的长程增强效应的维持和诱导被提高了,并且大鼠在焦虑行为上也有改变。这些结果说明 mas 基因产物和 AT1 之间存在着相互作用,并且 AT1 受体的信号通路可能受到 MAS 受体的影响。

2.2.2 肠系膜微血管 为了确定 AT1-MAS 异源二聚体的生理关联性, Kostenis 等<sup>[17]</sup> 在细胞实验之后, 用 RT-PCR 的方法使野生型小鼠的肠系膜微血管均表达两者的 mRNA, 在该模型中, Ang II 造成了血管强烈的收缩, 但是在 MAS 敲除的小鼠中, Ang II 造成的肠系膜微血管的收缩效应增强了。以上两个作用均能被氯沙坦取消, 说明血管的收缩是 AT1 介导的特异效应。在自然组织中, MAS 受体能与 AT1 受体形成异源二聚体, 所以能在活体中作为 AT1 的功能性拮抗剂。

2.2.3 心脏 Castro 等<sup>[19]</sup> 用 Langendorff 法灌注雄性 C57BL/6J 小鼠和敲除 MAS 受体的小鼠心脏, 发现在 C57BL/6J 小鼠心脏中给予 Ang-(1-7), 灌注压不发生改变。在共同给予 Ang-(1-7) 和氯沙坦之后却导致灌注压明显下降, 并且能被 A-779, 吡啶美辛, L-NAME 阻断, 而在敲除了 MAS 受体的小鼠心脏并没有发现此效应。另外, 在 C57BL/6J 小鼠心脏中同时给予 Ang-(1-7) 和 PD123319, 灌注压明显升高。A-779 不能影响该效应, 而氯沙坦能削弱以上效应。在给予 Ang-(1-7) 和氯沙坦的 MAS 敲除鼠组, MAS 敲除鼠对照组, 野生型鼠对照组, 给予了 Ang-(1-7) 和氯沙坦的野生鼠组的心脏中, 灌注压力依次下降, 显示 Ang 1-7 在离体灌注的小鼠心脏中产生了复杂的心血管效应。该作用由 MAS 受体和 AT1, AT2 受体之间复杂的相互作用引起。

### 3 MAS受体和AT1受体相互作用的可能机制是受体的寡聚化

G 蛋白偶联受体 (GPCRs) 在与细胞外信号分子结合后, 通过与之偶联的 G 蛋白调节酶、离子通道等效应器的活性。以前认为 GPCR 总是以单体形态存在, 但是一系列研究证明 GPCRs 能以寡聚体复合物的形式存在并且被激活<sup>[20]</sup>。GABA 受体的两个亚型 (GABA<sub>B</sub>R1, R2) 要同时表达才能构成细胞表面有功能的 GABA<sub>B</sub>受体<sup>[21~23]</sup>。用共免疫沉淀分析证实的存在这两种受体的二聚体与以上结论一致。

Kostenis 等<sup>[17]</sup> 用 BRET 和共免疫沉淀的方法证明了受体间寡聚体的存在。这是由受体和受体之间的互补作用形成的, 如有点突变的 2 个缺乏配体结合能力的 AT1 受体通过互补作用能够重建结合血管紧张素的能力<sup>[24]</sup>, 这是因为形成嵌合体的 2 个受体重建了配体结合区域和与信号转导有关的区域; 而且 Salahpour 等<sup>[25]</sup> 认为受体和受体之间跨膜区域的疏水性相互作用和分子间的二硫键的形成对寡聚

体的构成是很重要的。许多研究发现在形成寡聚体以后, 受体表现出了新的药理学性质: (1) 一个受体起着另一个受体的“伴侣分子”的作用。如 GABA<sub>B</sub>R1 受体与本来没有活性的 GABA<sub>B</sub>R2 受体结合才能在细胞表面表现出一个功能性的 GABA<sub>B</sub>受体。(2) 寡聚化之后的复合体的功能和配体结合特性都与任何一个单独的受体不同。(3) 寡聚化之后触发信号途径的增强。如在先兆子痫妇女中, AT1-缓激肽 B2 受体 [AT(1)-B(2)] 二聚体的表达增加了对 Ang II 的反应能力<sup>[26]</sup>。虽然有很多资料已经描述了受体受体之间的异源或者同源的寡聚化, 可是这种寡聚化是否是可逆的, 是否能发展一种能与这种复合体相作用的新的特异性的配体仍是迫切需要解决的问题。

### 参 考 文 献

- 01 曾武涛, 马虹, 鲁伟, 等. 血管紧张素-(1-7) 在血管紧张素 II 诱导心肌细胞肥大中的作用 [J]. 中华心血管病杂志, 2000, 28(6): 460-463.
- 02 Loot AE, Roks AJ, Henning RH, et al. Angiotensin-(1-7) attenuates the development of heart failure after myocardial infarction in rats [J]. *Circulation*, 2002, 105(10): 1548-1550.
- 03 张卉, 王志斌, 何晓凡, 等. Ang(1-7) 对 Ang II 诱导人脐静脉血管内皮细胞株细胞组织因子表达的影响 [J]. 中华血液学杂志, 2005, 26(9): 557-559.
- 04 Santos RA, Simoes Silva AC, Maric C, et al. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(14): 8258-8263.
- 05 Ambroz C, Clark AJ, Catt KJ. The mas oncogene enhances angiotensin-induced [Ca<sup>2+</sup>]i responses in cells with pre-existing angiotensin II receptors [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1991, 1133(1): 107-111.
- 06 Pinheiro SV, Simoes e Silva AC, Sampaio WO, et al. Nonpeptide AVE 0991 is an angiotensin-(1-7) receptor Mas agonist in the mouse kidney [J]. *Hypertension*, 2004, 44(4): 490-496.
- 07 Wolf G, Neilson EG. Effects of angiotensin II on proximal tubular cells stably transfected with the c-mas oncogene [J]. *Am J Physiol*, 1992, 263(5 Pt 2): F931-F938.
- 08 Walther T, Voigt JP, Fink H, et al. Sex specific behavioural alterations in Mas-deficient mice [J]. *Behav Brain Res*, 2000, 107(1-2): 105-109.
- 09 Santos RA, Campagnole-Santos MJ, Andrade SP. Angiotensin-(1-7): an update [J]. *Regul Pept*, 2000, 91(1-3): 45-62.
- 10 Ferrario CM. Does angiotensin-(1-7) contribute to cardiac adaptation and preservation of endothelial function in heart failure? [J]. *Circulation*, 2002, 105(13): 1523-1525.
- 11 Canals M, Jenkins L, Kellett E, et al. Up-regulation of the angiotensin II AT1 receptor by the Mas proto-oncogene is due to constitutive activation of Gq/G11 by Mas [J]. *J Biol Chem*, 2006, 284(24): 16757-16767.
- 12 Lee DK, Lanca AJ, Cheng R, et al. Agonist-independent nuclear localization of the Apelin, angiotensin AT1, and bradykinin B2 receptors [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(9): 7901-7908.

- 13 Hellner K, Walther T, Schubert M, et al. Angiotensin-(1-7) enhances LTP in the hippocampus through the G-protein-coupled receptor Mas[J]. *Mol Cell Neurosci*,2005,29(3):427-435.
- 14 Tallant EA, Ferrario CM, Gallagher PE. Angiotensin-(1-7) inhibits growth of cardiac myocytes through activation of the mas receptor [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289 (4): H1560-H1566.
- 15 Alenina N, Baranova T, Smirnov E, et al. Cell type-specific expression of the Mas proto-oncogene in testis[J]. *J Histochem Cytochem*, 2002,50(5):691-696.
- 16 Ferreira AJ, Santos RA. Cardiovascular actions of angiotensin-(1-7) [J]. *A J Braz J Med Biol Res*, 2005,38(4):499-507.
- 17 Kostenis E, Milligan G, Christopoulos A, et al. G-protein-coupled receptor mas is a physiological antagonist of the angiotensinII type 1 receptor[J]. *Circulation*,2005,111(14):1806-1813.
- 18 von Bohlen und Halbach O, Walther T, Bader M, et al. Interaction between Mas and the angiotensin AT1 receptor in the amygdala[J]. *J Neurophysiol*,2000,83(4):2012-2021.
- 19 Castro CH, Santos RA, Ferreira AJ, et al. Evidence for a functional interaction of the angiotensin-(17) receptor Mas with AT1 and AT2 receptors in the mouse heart[J]. *Hypertension*, 2005,46(4):937-942.
- 20 Salahpour A, Angers S, Bouvier M. Functional significance of oligomerization of G-protein-coupled receptors [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2000,11(5):163-168.
- 21 Jordan BA, Devi LA. G-protein-coupled receptor heterodimerization modulates receptor function[J]. *Nature*,1999,399(6737):697-700.
- 22 Kuner R, Kohr G, Grunewald S, et al. Role of heteromer formation in GABAB receptor function[J]. *Science*,1999,283(5398):74-77.
- 23 Ng GY, Clark J, Coulombe N, et al. Identification of a GABAB receptor subunit, gb2, required for functional GABAB receptor activity [J]. *J Biol Chem*,1999,274(12):7607-7610.
- 24 Monnot C, Bihoreau C, Conchon S, et al. Polar residues in the transmembrane domain of the type I angiotensin II receptor are required for binding and coupling. Reconstitution of the binding site by co-expression of two deficient mutants [J]. *J Biol Chem*,1996,271(3):1507-1513.
- 25 Salahpour A, Angers S, Bouvier M. Functional significance of oligomerization of G-protein-coupled Receptors [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2000,11(5):163-168.
- 26 AbdAlla S, Lothar H, el Massiery A, et al. Increased AT(1) receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness [J]. *Nat Med*,2001,7(9):1003-1009.

(上接第342页)

- 10 Yamamoto S, Oka S, Inoue M, et al. Mice deficient in nervous system-specific carbohydrate epitope HNK-1 exhibit impaired synaptic plasticity and spatial learning [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(30):27227-27231.
- 11 Sykova E, Vorisek I, Mazel T, et al. Reduced extracellular space in the brain of tenascin-R- and HNK-1-sulphotransferase deficient mice [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 22(8):1873-1880.
- 12 陈惠黎. 生物大分子的结构和功能 [M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1999. 379-380.
- 13 Arikawa-Hirasawa E, Watanabe H, Takami H, et al. Perlecan is essential for cartilage and cephalic development [J]. *Nat Genet*, 1999, 23(3):354-358.
- 14 Arikawa-Hirasawa E, Wilcox WR, Le AH, et al. Dyssegmental dysplasia, Silverman-Handmaker type, is caused by functional null mutations of the perlecan gene [J]. *Nat Genet*, 2001, 27(4):431-434.
- 15 Arikawa-Hirasawa E, Le AH, Nishino I, et al. Structural and functional mutations of the perlecan gene cause Schwartz-Jampel syndrome, with myotonic myopathy and chondrodysplasia [J]. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(5):1368-1375.
- 16 Arikawa-Hirasawa E, Rossi SG, Rotundo RL, et al. Absence of acetylcholinesterase at the neuromuscular junctions of perlecan-null mice [J]. *Nat Neurosci*, 2002, 5(2):119-123.
- 17 Hoffman S, Chuong CM, Edelman GM. Evolutionary conservation of key structures and binding functions of neural cell adhesion molecules [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81(21):6881-6885.
- 18 Seki T, Arai Y. Expression of highly polysialylated NCAM in the neocortex and piriform cortex of the developing and the adult rat [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 1991, 184(4):395-401.
- 19 Seki T, Arai Y. The persistent expression of a highly polysialylated NCAM in the dentate gyrus of the adult rat [J]. *Neurosci Res*, 1991, 12(4):503-513.
- 20 Roth J, Kempf A, Reuter G, et al. Occurrence of sialic acids in *Drosophila melanogaster* [J]. *Science*, 1992, 256(5057):673-675.
- 21 Negishi M, van Kuik JA, Vliegthart JF. Oligosaccharide composition of the neurotoxin-responsive sodium channel of mouse neuroblastoma and requirement of sialic acid for biological activity [J]. *Carbohydr Res*, 1992, 236:209-225.
- 22 Durbec P, Cremer H. Revisiting the function of PSA-NCAM in the nervous system [J]. *Mol Neurobiol*, 2001, 24(1-3):53-64.
- 23 Bruses JL, Rutishauser U. Roles, regulation, and mechanism of polysialic acid function during neural development [J]. *Biochimie*, 2001, 83(7):635-643.
- 24 Sato C. Frequent occurrence and biological significance of degree of polymerization in sialic acid [J]. *Seikagaku*, 2003, 75(12):1526-1530.
- 25 Sato C, Matsuda T, Kitajima K. Neuronal differentiation-dependent expression of the disialic acid epitope on CD166 and its involvement in neurite formation in Neuro2A cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(47):45299-45305.
- 26 Endo T, Toda T. Glycosylation in congenital muscular dystrophies [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(12):1641-1644.