

乙酰胆碱受体结构与功能的研究进展*

郭晨云 李卓玉 袁静明**

(山西大学生物工程中心 太原 030006)

摘要 乙酰胆碱受体是一种神经递质介导的离子通道受体,由 5 个同源亚基组成。乙酰胆碱受体包括肌肉型和神经型两种。肌肉型乙酰胆碱受体是肌肉神经传导中的重要媒介物质以及自身免疫疾病重症肌无力的主要免疫原,神经型乙酰胆碱受体的突变也可导致某些疾病的发生。扼要介绍了近年来乙酰胆碱受体结构与功能的研究进展。

关键词 乙酰胆碱受体 神经递质 离子通道 肌无力

乙酰胆碱受体的研究至今已有 20 多年的历史。它是神经递质介导的离子通道受体,也是包括甘氨酸受体、 γ -氨基丁酸受体和血凝紧张素在内的受体总科模型。脊椎动物中有两种不同的离子通道受体亚科,即肌肉型乙酰胆碱受体和神经型乙酰胆碱受体^[1,2]。前者存在于骨骼神经肌肉接点的后突触以及电鳗的发电器官;后者存在于中枢和外周神经系统的前突触和后突触膜上。在肌肉神经传导过程中,乙酰胆碱作为一种化学信号,与接受信号的神经细胞突触膜上的乙酰胆碱受体相结合,导致乙酰胆碱受体及其相关膜蛋白的构象变化,从而传递神经冲动^[3,4]。重症肌无力是一种自身免疫疾病,在患者血液中存在非正常的乙酰胆碱受体的抗体,它作用于乙酰胆碱受体,使其变形、退化,不能与乙酰胆碱结合,抑制肌肉神经传递。正是由于乙酰胆碱受体作为自身抗原模型和神经肌肉受体模型的双重作用,它的抗原结构和通道功能研究引起了众多科学家的关注。

1 乙酰胆碱受体的结构

无论是肌肉型乙酰胆碱受体还是神经型乙酰胆碱受体在氨基酸组成及结构上都有一些共同特征。在转译过程中,前体蛋白 N 端部分序列被删除后的成熟亚基结构包括^[5]:一个大约 220

个氨基酸的 N 端处于胞外结构,含有一个与 1 亚基中 128 位和 142 位半胱氨酸之间的同源二硫键,在大多数乙酰胆碱受体亚基的 141 有一个 N 糖基化位点,某些胞外结构域还含有另外的糖基化位点,但所有的乙酰胆碱受体至少含有一个糖基化位点;3 个紧密排列的,高度保守的螺旋跨膜结构域(M1 - M3)彼此通过亲水支链连在一起;第四个跨膜结构域(M4)有大约 20 个氨基酸延伸穿过脂质双分子层形成一个短的胞外序列(10 - 20 个氨基酸);M3 和 M4 之间含有 110 ~ 270 个氨基酸的胞质结构域,不同亚基其序列亦不同,但都有磷酸化位点(见图 1)。

肌肉型乙酰胆碱受体是一种异聚体跨膜蛋白,由 5 个同源亚基围绕一个阳离子如 Ca^{2+} , K^{+} 等介导的中央孔组成。肌肉型乙酰胆碱受体有两种亚类。一类发现于胎儿的肌肉中,亚基组成为 $(1)_2 1$, 另一类在成人的肌肉神经细胞终极板中发现,由 2 亚基取代了 1 亚基^[6]。5 个亚基以 1 () 1 的排列形式在离子通道周围形成筒状结构。乙酰胆碱受体有两个乙酰胆碱结合位点,分别位于 1 与 或, 1 与 之间^[7]。主要免疫区域位于 1 亚基的 66 ~ 76 位氨基酸残基^[8],特别是 68 ~ 71 位氨基酸残基与肌无力病人产生的自身抗体有较强的结合力^[9]。

神经型乙酰胆碱受体由 2 - 9 种亚基和 2 - 4 种亚基组成,其结构与肌肉型乙酰胆碱受体基本相似,在人体中主要有 $(4)_2 (2)_3$, $(4)_2 (2)_2 5$, $(3)_2 (4)_3$, $(3)_2 4 5$, $(3)_2 (4)_2 5$,

* 山西省自然科学基金项目(批准号:20011027)

** 通讯联系人

(7)₅。亚基和亚基有很大的同源性,在亚基 N 端胞外结构域的乙酰胆碱结合位点的附近有两个相邻的半胱氨酸,亚基则缺乏这些半胱氨酸。神经乙酰胆碱受体有两个分支,一个分支由 2 - 6 亚基和 2 - 4 亚基组成异聚体,如

(4)₂(2)₃,亚基之间按 4 2 4 2 2 方式排列于离子通道周围,乙酰胆碱的两个结合位点在 4 2 之间。另一分支由 7 - 9 同源亚基组成,如 (7)₅,它在中枢神经和外周神经中都有分布^[10]。

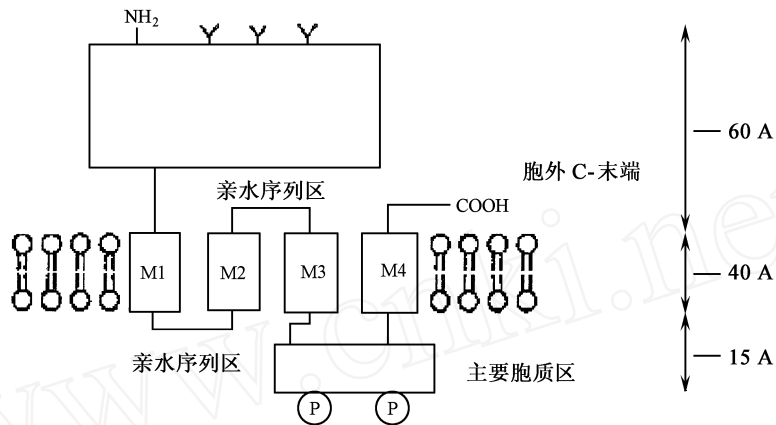


图 1 乙酰胆碱亚基之间三级结构模式图

2 乙酰胆碱受体的作用机理

乙酰胆碱受体和其它配体介导的离子通道的功能特性基本相似。乙酰胆碱受体可识别并结合神经递质乙酰胆碱。二者一旦结合,乙酰胆碱受体偶联的离子通道开启,增大阳离子进入脂膜的机会。这样,离子通道开启,细胞磷脂双分子层两面的水溶液又有一个新的离子浓度梯度。胞外溶液具有高的钾离子浓度(流出),胞内溶液具有高的钠离子浓度(流入)。浓度平衡的改变导致膜去极化。膜的去极化又引起神经细胞特定的生理反应。随着细胞膜去极化程度增加,会引起动作电位,动作电位通过肌肉神经细胞膜传播到肌纤维。动作电位的传播同时促使肌肉细胞膜间钙离子的释放,最终导致肌球纤维的收缩。

所有与生物活动有关的乙酰胆碱受体特性都是在与神经递质乙酰胆碱结合时引起的。乙酰胆碱受体与乙酰胆碱结合后,受体构象就会改变。研究表明乙酰胆碱受体可在 4 个构象之间相互转化^[11](图 2)。

在神经递质乙酰胆碱不存在的情况下,大多数受体(约 80%)处于静止状态(R),只有约

20%受体处于脱敏状态(D),此时离子通道是关闭的。在乙酰胆碱刚出现时,受体在微秒到毫秒间被激活,处于活化状态(A)。此时,乙酰胆碱受体对乙酰胆碱具有低亲和力,解离常数 K_d 在 10 μ mol L⁻¹ - 1 mmol L⁻¹ 之间,离子通道打开。

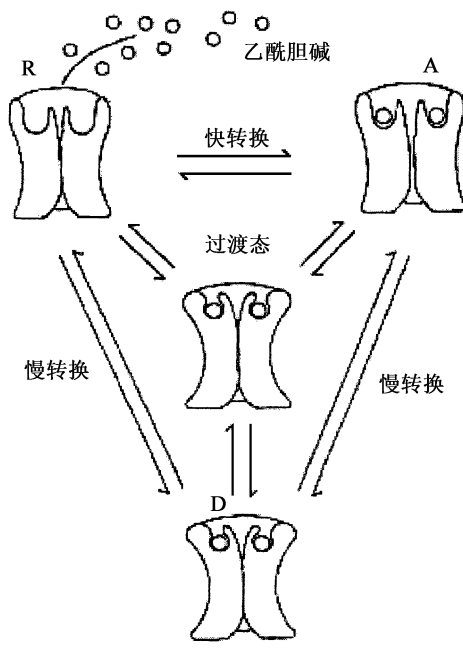


图 2 乙酰胆碱受体的动力学构象

从构象 R 到 A 态的转化是快速完成的,仅需微秒到毫秒的时间。随着结合时间延长,乙酰胆碱受体从活化态转变成一种过渡状态(I),它约需 1 ~ 100 毫秒的时间。继而在几秒到几分钟内转化成 D 状态。构象从 R 转化到 D 状态不需能量或离子梯度的协助。I 和 D 状态对乙酰胆碱等拮抗剂以及抗乙酰胆碱受体抗体等反拮抗剂都有高亲和性,解离常数 K_d 范围为 $10\text{nmol L}^{-1} \sim 10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ 。从 D 到 R 态的回复状态速率比较慢。

肌肉型乙酰胆碱受体和神经型乙酰胆碱受体具有基本相同的功能,只是它们存在于不同的神经元。神经型乙酰胆碱受体形成的离子通道有较高 Ca^{2+} 通透性, Ca^{2+} 通透性与 Na^{+} 通透性比值约为 1.1,而 3 4 亚类型构成的离子通道,该通透比值可达到 10 以上^[12]。此外,神经型离子通道可通过外界 Ca^{2+} 浓度的调节打开。 Ca^{2+} 结合位点在 7 亚基上,该结合位点可能在 7 的 161 - 172 残基之间^[10],另一个位点是 Gu^{18} 或 Gu^{44} 。

3 肌肉型乙酰胆碱受体与肌无力

曾报道乙酰胆碱酯酶和其它突触成分的突变可以引起肌无力,但许多先天性肌无力是由肌肉型乙酰胆碱受体突变引起的^[13, 14, 15]。1, 1, 尤其是 1 亚基的突变都可以引起先天性肌无力^[16]。1 亚基中乙酰胆碱结合位点附近的突变常引起对乙酰胆碱的高亲和性,使通道重复开启,引起肌无力症状的细胞毒性伤害。1 亚基的胞外结构域单个氨基酸残基的改变也可引发通道开启速率的降低和对乙酰胆碱的低亲和性,阻碍神经传递,但不引起突触后膜的形态细胞毒性伤害。改变信号肽序列,或者阻止亚基组装来减少乙酰胆碱受体的数量的回复突变也会引发肌无力综合症。M2 通道结构域的突变会引起通道的突然开启和开启时间延长,破坏突触形态,减少乙酰胆碱数量和导致过量的钙离子流入,引发细胞中毒性肌无力^[17]。

后天获得、与自身免疫有关的重症肌无力,即“获得性自身免疫性重症肌无力”一般认为由于病毒感染胸腺上皮细胞使之成为上皮样细胞,在其表面出现新的抗原决定簇。此种新的抗原决定簇作为非己抗原,促使机体产生细胞和体液免疫应答反应。由于新的抗原决定簇与神经肌

肉接头处突触后膜的乙酰胆碱受体结构相似,由此引起的细胞和体液免疫应答也作用于神经肌肉接头处的乙酰胆碱受体,即启动了针对神经肌肉接头处突触后膜乙酰胆碱受体的异常自身免疫应答反应^[18]。

4 结语

乙酰胆碱受体结构和功能的研究,在很大程度上用于重症肌无力症的发病机理和治疗方法的探索。目前,对肌无力症的治疗已取得了一定的进展,但尚未发现真正有效的治疗方法,还需深入研究乙酰胆碱受体的结构及功能性质。肌肉型乙酰胆碱受体的研究报道虽然比较多,但由于从电鳗的发电器官中提取的乙酰胆碱受体稳定性差,而通过基因工程手段构建的工程菌,在表达产生乙酰胆碱受体时几乎都形成了包涵体,因而严重影响了研究的进展。我们曾尝试用分子伴侣蛋白 GroESL 协助乙酰胆碱受体在工程菌中的正确折叠,结果表明增加了可溶性蛋白的含量^[19],但仍不够理想,进一步的研究还在进行当中。神经型乙酰胆碱受体的研究要落后于肌肉型乙酰胆碱受体,目前虽然推断癫痫等多种疾病可能与神经型乙酰胆碱受体突变有关,但缺乏充足的数据,还需深入研究。

参考文献

- [1] Partick J, Lindstrom J. Science, 1973; 180: 871 ~ 872
- [2] Nagel A, Engel A, Lang B, et al. Ann Neurol, 1998, 24: 552 ~ 558
- [3] Fischer U, Reinhardt S, Albuquerque, et al. Eur J Neurosci, 1999; 11: 2856 ~ 2864
- [4] Grando S, Horton R. Curr opin Dermatol, 1997, 4: 262 ~ 268
- [5] LeNovere N, Corringer J P. Biophys J, 1999, 76: 2329 ~ 2345
- [6] Linstrom J M. Muscle and Nerve, 2000, 4: 453 ~ 477
- [7] Tzartos S, Barkas T, Cung M, et al. Immunol Rev, 1998, 163: 89 ~ 120
- [8] Saedi MS, Anand R, Cornroy WG, et al. FEBS Lett, 1990, 267: 55 ~ 59
- [9] Arias H R. Biochimica et Biophysica Acta, 1998, 1376: 173 ~ 220
- [10] Elgoyhen A, Johnson D, Boulter J, et al. Cell, 1994, 79: 705 ~ 715
- [11] Engel A, Ohno K, Sine S. Arch Neurol, 1999, 56: 163 ~ 167

- [12] Wang H L, Aurbach A, Bren N, et al. J Gen Physiol, 1997; 109: 757 ~ 766
- [13] Penn A, Low B, Jaffe I, et al. Ann Ny Acad Sci, 1998, 841: 433 ~ 447
- [14] Russell A, Lindstrom J. Neurology, 1978, 28: 847 ~ 849
- [15] Cooper E, Counturier S, ballivet M. Nature, 1991, 350:235 ~ 238
- [16] Engel A, Ohno K, sine S. Arch Neurol, 1999, 56: 163 ~ 167
- [17] Wang H L, Aurbach A, Bren N et al. J Gen Physiol, 1997, 109:757 ~ 766
- [18] 许贤豪. 中华内科杂志, 1998, 37 (3):37 ~ 39
- [19] 李卓玉, 袁静明. 中华微生物和免疫学杂志, 2000, 20 (1): 32 ~ 34

The Recent Advances of the Structure and Function of Acetylcholine Receptor

Guo Chenyun Li Zhuoyu Yuan Jingming

(Research Center for Biotechnology ShanXi University Taiyuan 030006)

Abstract Acetylcholine receptor (AChR) comprised of five homogenous subunits is a kind of neurotransmitter-gated ion channel receptor. It contains both the muscle-type AChR and the neuronal-type AChR. Muscle-type AChR is an important medium of neuronal transmission and main immunogen of Myasthenia gravis, as well as some diseases were induced by the mutation of neuronal-typed AChR. The recent advances of the structure and function of acetylcholine receptor have been introduced in this article for the exploration of the mechanism of Myasthenia gravis and other relevant diseases.

Key words Acetylcholine receptor Neurotransmitter Ion channel Myasthenia gravis

欢迎订阅中国科学院文献情报中心编辑出版的学术刊物

《图书情报工作》(月刊)由中国科学院主管、中科院文献情报中心主办,是我国大型图书馆学情报学专业核心期刊,中国期刊方阵“双奖”期刊,突出前沿性、实用性、权威性。本刊是了解学科发展趋势,掌握学科发展动态的必备刊物。主要栏目有:专题 通过作者的理性探索和思想火花的碰撞,将热点问题讨论推向纵深;课题研究报告 发布本学科领域国家级和省部级大中型课题研究成果。其它栏目包括:理论研究、信息管理与信息服务、信息技术与信息产业、事业建设、学科教育、学术争鸣、书刊评介等。国内外公开发行,各地邮局均可订阅,邮发代号 2-412,定价 12.60 元,全年订价 151.2 元。编辑部电话:82623933,82626611-6614,传真:82621460,电子信箱:journal@mail.las.ac.cn

《现代图书情报技术》(双月刊)是中国科学院文献情报中心主办的信息管理技术类业务指导性刊物,集图书馆界、情报界各种现代技术的应用和情报信息服务工作导向于一身,面向情报信息界、图书馆界和档案界,技术导向强、信息量大、内容丰富,是国内唯一一份被中国图书馆学会和中国科技情报学会共同推荐的专业技术类中文核心期刊,中国图书馆学会优秀期刊。2003 年为大 16 开 96 页,每期定价:16 元,全年 96 元。主要栏目:数字图书馆、图书馆自动化、信息检索技术、网络资源与建设、网络多媒体技术、金融证券管理、工作交流等。邮发代号:82-421,国外刊号:BM4345,编辑部电话/传真:82624938,电子信箱:lichy@mail.las.ac.cn