

G 蛋白偶联受体相关分选蛋白研究进展*

季丙元^{1,2} 陈京¹ 白波¹

(¹ 济宁医学院神经生物学研究所, 山东 济宁 272067; ² 山东农业大学生命科学学院, 山东 泰安 271018)

关键词 G 蛋白偶联受体; G 蛋白偶联受体相关分选蛋白; GPCR 相互作用蛋白; 全内反射荧光显微镜; 信号转导

中图分类号: Q291 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-9760(2013)08-287-05

G 蛋白偶联受体(G Protein-coupled Receptors, GPCRs)是人类基因组编码的最丰富的一类膜蛋白家族。GPCRs 可被包括气体、光子、氨基酸及其衍生物、Ca²⁺、肽、脂类物质和大量的糖蛋白激素等在内的多种配体激活,进而引发细胞信号转导,参与调节人体心血管系统、免疫系统和神经系统等在内的几乎所有的生理过程。目前市场上约有近一半的药物靶点作用在这些受体上。一旦结合配体,GPCR 会发生内吞、脱敏,表达水平下调,这也是导致体内药物耐受的关键因素。虽然对 GPCR 内吞后分选机制还不是很清楚,但已阐明有大量蛋白可与 GPCRs 相互作用,在 GPCR 的脱敏和下调过程中发挥着重要的作用,如 β-arrestin、Na⁺/H⁺ 交换调节因子/埃兹蛋白结合蛋白 50 (Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor, NHERF)/(ezrin radixin moesin-binding protein 50-kDa, EBP50)、N-己基顺丁烯二酰亚胺敏感因子(N-ethylmaleimide-sensitive factor, NSF)、肝细胞生长因子调节激酶(hepatocyte growth factor-regulated kinase, HRS)、分选微管连接蛋白 1(sorting nexins 1, SNX1)、内体分选转运必需复合物(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)^[1]、dysbindin 等。我们称这些蛋白为 GPCR 相互作用蛋白(GPCR interacting proteins, GIPs)。GIPs 有些是跨膜蛋白,有些则是可溶性蛋白,它们主要与受体的 C 末端相互作用。

一旦内化,GPCR 有两条去路,或被降解或被再循环至质膜重新利用。最近发现一类新的 GIPs,即 G 蛋白偶联受体相关分选蛋白(GPCR associated sorting proteins, GASPs)家族,GASPs

在 GPCR 的内吞后分选过程中发挥着重要的作用。本文将阐述这一蛋白家族的分子特征、在 GPCRs 内吞(endocytosis)后分选过程中的作用及其与某些生理和病理过程的相关性。

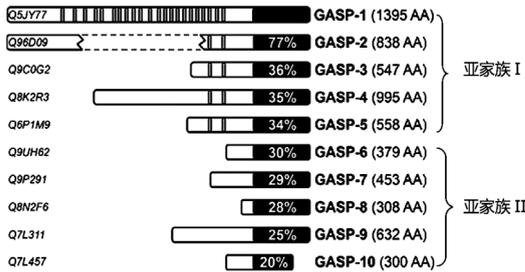
1 GASPs 的基因组成和分子特性

GASP 家族由 10 个成员组成,即 GASP-1~GASP-10,大小从 249~1395 个氨基酸不等,各成员之间有明显的序列相似性。它们都有一个保守的含 250 氨基酸残基的 C 末端区。在 GASP-1 和其他的 GASPs 成员之间约有 20%~77% 的序列同源性。根据它们的分子特点可以把 GASPs 蛋白家族分成两个亚家族,亚家族 I 包括 GASP-1 到 GASP-5,在 C 末端区之外都含有由 15 个氨基酸组成的重复基序,称为“GASP 基序”(图 1);亚家族 II 包括 GASP-6 到 GASP-10,都不含有这个基序,但是在近 N 端区都存在跨膜区,在保守的 C 端区存在玃狢类重复。除 GASP-8 外,所有 GASP 成员均定位于人染色体 Xq22.1~q22.2。人类基因组有两个 GASP-8 基因拷贝,分别定位于人类 7 号染色体和 3 号染色体上。第 1 个含有 7 个蛋白编码外显子,产生 4 种剪接亚型。而第 2 个则像其他 GASP 基因一样只包含一个蛋白编码外显子,产生一种剪接亚型。此外,对基因组序列的深度分析显示,GASP 基因(GASP-8 除外)位于 X 染色体的同一个区域内,这一点对胎盘类哺乳动物是特异的。除了 GASP-10 其同源序列在硬骨鱼类 Danio rerio 中发现外,对 GASP 基因来说,在非哺乳动物中还没发现其同源序列。

GASPs 广泛表达于各种组织,但主要还是表达在中枢神经系统。在转染细胞或内源性表达 GASPs 的细胞或器官中已研究了多个 GASPs 的亚细胞定位。所有这些报道显示,GASP-1 大多定

* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 31271243; No. 81070961);山东省自然科学基金资助项目(No. ZR2011CM027; No. ZR2009DZ004);泰山学者建设专项资金

位在细胞质中。一些情况下,GASP 亚家族 I 的成员(GASP-1 和-3)也呈现出核质定位,表明这些蛋白在某些特定的情况下可在核与质之间穿梭。细胞质内,GASP-II 亚家族的一些成员也与细胞器膜如线粒体、内质网或核膜结合^[2]。



黑色框中百分比代表各成员间的序列同源性大小,小的灰色框代表高度保守的含 15 个氨基酸残基的重复“GASP 基序”,GASP-1 含有 22 个“GASP 基序”,从 GASP-2 到 GASP-5 含有 2 个“GASP 基序”,而亚家族 II 各成员均不含有此重复基序。

图 1 GASP 家族成员比较^[3]

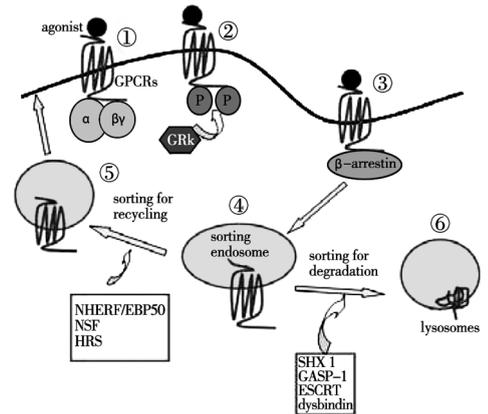
2 GASP 的功能

2.1 GASP 在 GPCRs 内吞后分选过程中的作用

激动剂刺激后,GPCRs 被 G 蛋白偶联受体激酶(G protein-coupled receptor kinases,GRKs)磷酸化,引发受体与 G 蛋白解偶联,继而 arrestins 与受体结合促进受体内吞。内吞后,GPCRs 受体有两条分选途径,即再循环和降解(图 2)。然而,受体磷酸化不仅影响内吞,而且还通过调节受体和分选蛋白的相互作用或通过诱导其他翻译修饰影响受体内吞后的命运。已鉴定出数个蛋白,可特异地将 GPCRs 靶向至再循环或降解途径^[4-5]。研究发现受体再循环是由包含在受体胞质部分尾部的再循环序列所介导的^[6]。由此推测,可能存在特异的“再循环蛋白”与这些序列相互作用,从而促进 GPCR 再循环。已鉴定出一些“再循环蛋白”,如 β_2 -肾上腺素受体(β_2 adrenergic receptor, β_2 AR)可与 EBP50、NSF 和 HRS 相互作用,所有这些蛋白都有助于受体的再循环。破坏这些蛋白和受体的相互作用,会阻止受体再循环,促进受体降解。同样,也已鉴定出多个蛋白能参与调节 GPCRs 内吞后向溶酶体的降解途径,如 SNX1、ESCRT、dysbindin^[7]和 GASP-1。

GASP-1 可特异地将 δ 阿片受体(δ -opioid receptor, DOR)、多巴胺 D₂ 受体(dopamine D₂ receptor, D₂ R)、多巴胺 D₃ 受体(dopamine D₃ receptor, D₃ R)、大麻素 CB1 受体(cannabinoid receptor

1,CB1R)以及人巨细胞病毒编码的趋化因子受体 US28 等多个不同的 GPCRs 运送至溶酶体降解^[4-5,8-15]。但是,GASP-1 好像对 GPCR 亚家族成员表现出不同的选择性。例如,DOR、缓激肽 B₁ 受体(bradykinin B₁ receptors, B₁ R)和 D₂ R 被 GASP-1 运送至降解,而它们各自的家族成员 μ 阿片受体(μ -opioid receptors, MOR)、B₂ R 和 D₁ R 不与 GASP-1 相互作用,则被再循环至质膜,而不是被降解。当然,除可与 GPCR 互作外,GASP 家族成员还可与非 GPCR 蛋白互作,如生长因子受体、泛素连接酶等。实验证实,dysbindin 可下调 D₂ R、DOR 等 GPCR 受体的表达,而不能同 EGP 等非 GPCR 受体相互作用。同时,免疫共沉淀分析得知^[7],dysbindin 的确可与 GASP-1 相互作用。



GPCRs 被激动剂活化后与 G 蛋白结合①,随后 GRK 磷酸化受体,一般是受体 C 末端的丝氨酸/苏氨酸残基②。一旦磷酸化, β -arrestin 与受体结合导致受体脱敏③、通过网格蛋白有被小泡内化至分选体④。分选蛋白与 GPCRs 结合,介导受体再循环到质膜(如 NHERF/EBP50、NSF 和 HRS)⑤或到溶酶体中降解(如 SNX1、GASP-1、ESCRT 和 dysbindin)⑥。

图 2 GPCRs 内吞后分选途径

2.2 GASP 与 GPCR 相互作用机制

GASP-1 主要与受体的 C 末端尾部和其附近的 Helix-8 相互作用。由 GASP-1 的 497 个氨基酸残基组成的 C 末端(cGASP-1)能破坏 GASP-1 与 GPCRs 间的相互作用。cGASP-1 过表达时,可作为 GASP 的“显性负向竞争者”,抑制受体降解,促进受体再循环。Tanowitz M 等研究发现,MOR C 末端的结构序列决定子阻止了受体同 GASP-1 的结合,截去受体的最后 17 个氨基酸可增强 MOR 同 GASP-1 的相互作用,进而可导致受体靶向运输至溶酶体^[8]。与此相比,去掉 D₁ R 胞质尾部的小基序会阻断受体的再循环,但对受体和

GASP-1 的亲合力没有影响。结果是,这个突变的 D₁R 既没有再循环也没有被降解。因此,单独阻止 GPCRs 同再循环蛋白的相互作用不能促进受体降解,除非受体显示出与降解分选蛋白如 GASP-1 的亲合性^[8]。

在 GASP 家族成员中,GASP-2 与 GASP-1 同源性最高,可直接同 D₂R、 β_2 -AR^[15]、病毒的趋化因子受体 US28^[9]以及 Htt(与神经变性疾病亨廷顿病的发生有关)结合。研究发现,大麻素相关受体 GPR55 能够和 GASP-1、cGASP-1 和 GASP-2 结合。然而,GASP-2 与 GPR55 有最高的亲和力,而 GASP-1 和 cGASP-1 与 GPR55 的亲合力分别只有 GASP-2 的 85% 和 80%。虽然如此,现在没有证据表明这些蛋白与 GASP-2 相互作用会产生功能性的结果。cGASP-1 同 GASP-2 的 C 末端区序列同源性高达 62%,因此,如果 GASP-1 和 GASP-2 有相似的功能,对二者来讲 cGASP-1 都将会作为一个显性负向因子。另外,GPCR 和 GASP-1 可发生两种类型的互作,一些 GPCR 专门与 GASP-1 的中央区域互作,并且呈现出剂量依赖性,而其他 GPCR 则与 GASP-1 的中央区域和 C 末端都可互作,如 DOR。通过对 GASP-2 研究发现,“GASP 基序”中有 4 个高度保守的氨基酸残基即 SWFW,SWFW 是 GASP-2 与 GPCR 的 C 末端产生互作的最关键部位。

GASP 各成员序列相似,因此有可能具有相似的功能。然而,除了 GASP-1 和 GASP-2 之外,还没有发现其他成员可与 GPCR 相互作用。GASP-1、-2 可与多个 GPCR 强烈互作,最好的互作伴侣是 β_1 -AR、降钙素受体(calcitonin receptor,CALCR)和血栓素 A₂ 受体(thromboxane A₂ receptor, TXA₂R)。阿片类受体中,只有 DOR 可与 GASP-1 相互作用。GASP 亚家族 2 中,GASP-6、-7、-9 与 GPCR 的作用相当微弱。对它们之间的互作分析可知,亚家族 1 成员中,GASP-1 含有 22 个“GASP 基序”,GASP-2、-3、-4、-5 均含有 2 个“GASP 基序”,而 GASP 亚家族 2 各成员均不含有“GASP 基序”,因此我们推测,“GASP 基序”在 GPCR 与 GSAP 发生相互作用的过程中发挥着重要的作用,这也是导致 GASP 亚家族 2 成员与 GPCR 作用微弱的原因之一,另一个原因则是由于 GASP 亚家族 2 成员与 GASP-1 序列同源性较低。但是,“GASP 基序”竞争性合成肽照样可阻断 GASP-7 与 GPCR 的作用^[3],这表明,两个亚家族

很有可能与 GPCR 的同一区域结合,但结合模式不同。

2.3 体内 GASP-1 依赖的分选的相关性

最近,有关 GASP-1 的体内生物学研究也有报道。在 GASP-1 基因敲除小鼠,长期可卡因处理引起的多巴胺受体的过度刺激,将会增强这些动物的敏感性^[10]。这表明,一旦持续刺激,GASP-1 将会刺激受体循环超过受体降解。用 D₂R 激动剂预处理小鼠腹侧被盖区切片,受体没有从脱敏状态恢复过来,这与 D₂R 内吞后降解的能力一致。然而,用抑制剂抑制 D₂R-GASP-1 的相互作用则发现功能性 D₂R 反应的恢复。用激动剂 WIN55,212-2 刺激大麻素受体 CB1R 后,CB1R 可被 GASP1 介导至溶酶体降解。Tappe-Theodor 等用腺病毒表达的显性负向 cGASP-1 处理大鼠,并长期用大麻素药物处理,对照组大鼠表现出镇痛耐受效应,而接受显性负向 cGASP-1 的大鼠镇痛耐受效应显著降低。Martini 等^[16]对 GASP-1 敲除大鼠的研究发现,大麻素产生的多种生理效应的耐受程度显著降低。这些早期的研究揭示了 GASP-1 的体内相关性。

2.4 GASPs 调节信号转导

最近发现 GASP-1 可直接参与调节 GPCR 的信号转导。HEK293 细胞中内源性 GASP-1 的敲除会破坏趋化因子受体 US28 介导的 G α_q /PLC/IP 的累积^[9],而过表达 GASP-1 时,则增强了细胞中 IP 的形成。此外,由 US28 所致的转录因子核因子 NF-KB、cAMP 应答元件结合蛋白(CREB)也因为 GASP-1 的过表达或沉默被增强或抑制^[9]。由 GASP-1 的存在或缺失引起的 US28 信号能力的增强或降低的确切原因还不清楚,目前推测主要可能有两方面的因素所致,一是受体结合 GASP-1 后会呈现一种更好的构象状态,其次可能是受体被重新定位于一个对信号转导非常重要的细胞内区间。实验也确实发现只有一小部分的 US28 受体定位于细胞表面。然而,GASP-1 调节受体内吞后分选和影响信号活性的能力也许能说明其在连接两个过程中的重要作用。

2.5 GASPs 调节基因转录

多个研究表明,GASPs 家族的不同成员能参与转录调节。GASP-1 能与 Period-1 相互作用,同一细胞中共表达这两种蛋白能促进 GASP-1 进入细胞核。神经生长因子(NGF)处理 PC12 细胞可引起 GASP-1 的核定位,在 NGF 介导的核转位

下, GASP-1 能调节转录进而保护细胞防止凋亡。GASP-3 主要表达于细胞质,但在一些细胞的细胞核中也能观察到。另一方面, GASP-3 siRNA 处理的 PC12 细胞与血清剥夺处理的细胞相比对凋亡要稍微更敏感一些,表明 GASP-3 可能参与转录调节。GASP-6 定位于线粒体外膜,可同转录因子 Sox10 相互作用^[2],通过对 Sox10 进行翻译后修饰增加转录活性。在正常的肝细胞系(QSG-7701)过表达 GASP-8 的亚型 2 时发现,它能加速细胞生长,在肝癌细胞中用反义寡核苷酸或 RNAi 抑制这种亚型表达则能诱导细胞凋亡。

因此, GASP 亚家族 2 的两个不同的成员(GASP-6 和-8)确实能够通过和转录因子相互作用调节转录,而一些数据表明 GASP 亚家族 I 的两个不同的成员(GASP-1 和-3)能进入细胞核参与转录调节。

3 GASP 相关性疾病

有关 GASP 和疾病的研究主要集中在两个方面,一是 GASP 和神经变性疾病方面的关系,研究发现 GASP-1 基因敲除小鼠表现出纹状体依赖的程序性记忆的缺失,小鼠的获得性反应和表达复杂反应的能力严重受累^[17]。阿尔茨海默病患者大脑中 GASP-3 mRNA 水平降低;帕金森病患者的脑中 GASP-4 基因高度失调^[18]。精神分裂症患者中检测到 dysbindin 基因突变,而 GASP 和 dysbindin 功能相似,提示 GASP 亦可能参与神经紊乱等精神疾病的发病过程。二是其他有关 GASP 和疾病的报道都涉及在癌症中的作用。早期乳腺癌患者血清中可检测到 GASP-1 的表达而正常病人中则没有表达。同样免疫组化显示浸润性乳腺导管癌中 GASP-1 高表达,而毗邻的正常乳腺组织中表达量很少或几乎不表达^[19]。Furuta 等发现 13 个黑色素瘤细胞中发现有 2 个存在 GASP-1 启动子 CpG 岛甲基化混乱现象,但在 2 个体外培养的正常黑素细胞中没有发现这种现象。然而这种甲基化没有始终抑制 GASP-1 的基因表达。因此, GASP-1 好像不太可能参与了黑素瘤的发生和发展。相反,在数个结肠直肠癌细胞系和原发性肿瘤中,发现 GASP-3 基因启动子 CpG 岛的超甲基化,且同时伴随表达的丢失。这些结果提示了 GASP-3 在细胞转化中的潜在的作用。经过手术处理的头颈鳞状细胞癌患者与未经过手术处理的患者相比, GASP-3 和 GASP-2 显示出不同的表

达水平^[20]。GASP-5 基因启动子是癌基因 ZNF217 的作用靶标, ZNF217 是一个推测的癌基因,它包括 8 个锌指状结构,在致癌性转化过程中发挥重要的作用^[21]。然而,在这个研究中鉴定出来的大多数基因都被 ZNF217 所抑制,与其作为转录抑制子的说法相一致,而 GASP-5 被激活。在人肺、前列腺、结肠、胰腺和卵巢癌中, GASP-7 和 GASP-9 表达丢失或显著降低,这种现象也出现于从不同人癌所建立的细胞系中。最后, GASP-8 的亚型 2 在肝细胞癌中表达量上调。此外,过表达这种亚型的人肝细胞系在裸鼠中获得了加速生长比率和肿瘤发生,然而,用反义寡核苷酸或 RNAi 抑制其表达,将会诱导凋亡。

4 研究 GASP 生物学功能的新手段

GASP 通过与 GPCR 相互作用参与后者的内吞后分选过程,进而对其进行活性调节。同时,越来越多的证据表明 GASP 能够和转录因子相互作用参与转录调节。然而, GASP 的确切功能还不清楚,准确了解 GASP 参与细胞内生物学过程显然十分重要。对 GASP 和 GPCR 相互作用的研究主要采用了传统的 GST-pull down、免疫共沉淀、共定位等生化方法,因此很难确定其相互作用的部位。近年来,全内反射荧光显微镜(Total internal reflection fluorescence microscope, TIR-FM)、生物发光共振能量转移(Bioluminescence resonance energy transfer, BRET)、荧光共振能量转移(Fluorescence resonance energy transfer, FRET)或 BRET-FRET(即 sequential RET)等技术的出现为研究蛋白相互作用,克服了传统的检测方法对蛋白质具有损害性的缺点,它在活细胞中实时、动态监测蛋白质-蛋白质相互作用成为可能。本实验室已成功运用 BRET 技术证实 Apelin 受体(APJ)和 κ 型阿片受体(KOR)可形成异源二聚体,并将联合使用这些技术研究相关受体的二聚化乃至高阶聚化。

5 结语

GPCR 是重要的药物靶标,其在膜上的表达水平严重影响着药物的作用能效, GIPs 在其内吞及内吞后分选过程中发挥着重要的作用。GASP 是重要的 GIP,在调节 GPCR 活性、内吞、信号转导和基因转录等过程中发挥着重要的作用。GASP 家族成员参与了神经系统疾病、癌症等疾病的发生

生、发展。但目前仍不清楚, GPCR 受体的下调究竟是因为基因表达降低还是因受体降解而降低。不同的 GPCR 与 GASP 的亲和力不同, 因此可以推测, 降低受体与 GASP 的结合力, 可使受体在短时间刺激后发生再循环而不是被降解, 从而降低药物的耐受和成瘾。因此, 能破坏 GPCR 与 GASP 之间相互作用的复合物可阻断受体的下调, 促进复敏, 结果当然是可增强受体对内源性或外源性药物的反应能力, 从而有助于寻找新的治疗途径。另外, GASP 是一个 X 连锁基因, 这就是为什么在配体激活后能与 GASP 互作的受体, 所产生的的反应有性别差异。这就提示我们, 在针对此类受体给药时, 药物剂量应因性别不同而有所差异。

FRET、BRET 及 TIRF 等新技术将成为研究 GASP 的有力手段。综合运用这些技术将更明确 GASP 参与调节受体活性的起始部位、动态观察 GASP 参与细胞生物学活动的过程, 以及调节失控所导致的疾病的发生机制, 药物成瘾机制。因此, 需要更多的研究清楚地揭示 GASP 参与受体分选的机制, 评估药物引起的 GPCR 内吞后命运的临床发生, 以便进一步来理解这些蛋白的确切功能, 确定其是否可作为神经变性疾病和癌症等疾病的有价值的药物靶标。

参考文献:

[1] Hanyaloglu AC, von Zastrow M. Regulation of GPCRs by endocytic membrane trafficking and its potential implications [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2008, 48: 537-568.

[2] Mou Z, Tapper AR, Gardner PD. The armadillo repeat-containing protein, ARM CX3, physically and functionally interacts with the developmental regulatory factor Sox 10 [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(20): 13629-13640.

[3] Bornert O, Moller TC, Boeuf J, et al. Identification of a novel protein-protein interaction motif mediating interaction of GPCR-associated sorting proteins with G protein-coupled receptors [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56336.

[4] Hanyaloglu AC, von Zastrow M. A novel sorting sequence in the β 2-adrenergic receptor switches recycling from default to the Hrs-dependent mechanism [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(5): 3095-3104.

[5] Wang Y, Lauffer B, von Zastrow M, et al. NSF regulates β 2-adrenoceptors trafficking and signaling in cardiomyocytes [J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 72(2): 429-439.

[6] He J, Bellini M, Inuzuka H, et al. Proteomic analysis of β 1-adrenergic receptor interactions with PDZ scaffold proteins [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(5): 2820-2827.

[7] Marley A, Zastrow MV. Dysbindin promotes the post-endocytic sorting of G protein-coupled receptors to lysosomes [J]. *PLoS One*, 2010, 5(2): e9325.

[8] Thompson D, Pusch M, Whistler JL. Changes in G protein-coupled receptor sorting protein affinity regulate postendocytic targeting of G protein-coupled receptors [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(40): 29178-29185.

[9] Tschische P, Moser E, Thompson D, et al. The G protein-coupled receptor-associated sorting protein GASP-1 regulates the signaling and trafficking of the viral chemokine receptor US28 [J]. *Traffic*, 2010, 11(5): 660-674.

[10] Boeuf J, Trigo JM, Moreau PH, et al. Attenuated behavioural responses to acute and chronic cocaine in GASP-1-deficient mice [J]. *Eur J Neurosci*, 2009, 30(5): 860-868.

[11] Thompson D, Martini L, Whistler JL. Altered ratio of D1 and D2 dopamine receptors in mouse striatum is associated with behavioral sensitization to cocaine [J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11038.

[12] Thompson D, Whistler JL. Dopamine D3 receptors are down-regulated following heterologous endocytosis by a specific interaction with G protein-coupled receptor-associated sorting protein-1 [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(2): 1598-1608.

[13] Kargl J, Balenga NA, Platzer W, et al. The GPCR-associated sorting protein 1 regulates ligand-induced down-regulation of GPR55 [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 165(8): 2611-2619.

[14] Kargl J, Balenga N, Martini L, et al. Interactions of the G protein-coupled receptor associated sorting proteins (GASP) 1 and 2 with the novel cannabinoid receptor GPR55 [J]. *BMC Pharma*, 2008, 8(Suppl 1): A16.

[15] Cho DI, Zheng M, Min C, et al. ARF6 and GASP-1 are post-endocytic sorting proteins selectively involved in GRK- and PKC-mediated intracellular trafficking of dopamine D2 receptor in the transfected cells [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168: 1355-1374.

[16] Martini L, Thompson D, Kharazia V, et al. Differential regulation of behavioral tolerance to WIN55, 212-2 by GASP1 [J]. *Neuro psychopharmacology*, 2010, 35(6): 1363-1373.

[17] Mathis C, Bott JB, Candusso MP, et al. Impaired striatum-dependent behavior in GASP-1-knock-out mice [J]. *Genes Brain Behav*, 2011, 10(3): 299-308.

[18] Moran LB, Graeber MB. Towards a pathway definition of Parkinson's disease: a complex disorder with links to cancer, diabetes and inflammation [J]. *Neurogenetics*, 2008, 9(1): 1-13.

[19] Tuszynsk GP, Rothman VL, Zheng X, et al. G-protein coupled receptor-associated sorting protein 1 (GASP-1), a potential biomarker in breast cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2011, 91(2): 608-613.

[20] Rickman DS, Millon R, De Reynies A, et al. Prediction of future metastasis and molecular characterization of head and neck squamous-cell carcinoma based on transcriptome and genome analysis by microarrays [J]. *Oncogene*, 2008, 27(51): 6607-6622.

[21] Krig SR, Jin VX, Bieda MC, et al. Identification of genes directly regulated by the oncogene ZNF217 using chromatin immunoprecipitation (ChIP)-chip assays [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(13): 9703-9712.