

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2015.04.016

Caspases 与蛋白激酶在凋亡中的相互作用^{*}

武 菲 程葆华 综述 陈 京 白 波[△] 审校

(济宁医学院神经生物学研究所, 山东 济宁, 272067)

摘 要 细胞内错综复杂的蛋白激酶网络与 Caspases 网络均与细胞存活以及凋亡密切相关。凋亡过程中 Caspases 级联反应受到多种信号通路的调节, 其中蛋白激酶可以磷酸化 Caspases 及其底物, 进而影响其活性。而蛋白激酶又常常为 Caspases 的底物, Caspases 介导的蛋白激酶裂解可改变下游信号, 从而产生生物学效应。另外, 多种蛋白激酶通过磷酸化 Caspases 底物, 保护底物蛋白免于 Caspases 裂解, 因此, 蛋白激酶可以作为分子治疗的靶点。本文将对 Caspases 与蛋白激酶在凋亡中的相互作用研究进展作一综述。

关键词 Caspase; 蛋白激酶; 凋亡; CK2

中图分类号: R338.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9760(2015)08-281-05

细胞凋亡是细胞程序性死亡的一种, 其过程涉及 Caspases 对胞内多种蛋白的裂解作用^[1]。细胞内数以百万计的可逆性磷酸化是维持细胞稳态所必需的, 使得细胞能迅速适应内外环境变化, 其中 Caspases 与蛋白激酶的双向通信是细胞内重要的磷酸化反应。蛋白激酶信号通路与 Caspases 通路有交互联系^[2], 一方面蛋白激酶可以激活或抑制 Caspases, 另一方面活化的 Caspases 可裂解蛋白激酶, 改变下游信号。另外, 多种 Caspases 底物蛋白被蛋白激酶磷酸化后对 Caspases 裂解作用的敏感性改变。本文将综述蛋白激酶对 Caspases 及其底物的磷酸化作用, Caspases 对蛋白激酶的裂解作用, 以及 Caspases 和蛋白激酶两大类信号分子如何相互协调、调制细胞存活与凋亡。

1 蛋白激酶对 Caspases 的磷酸化作用

Caspases 是细胞凋亡通路的重要组成部分, 最初以惰性的酶原形式存在, 在受到外源刺激如死亡受体配体或者内源性刺激如胞内成分损伤后, 启动型 Caspases 首先被激活 (Caspase-2、-8、-9、-10), 进而水解并激活执行型 (或称效应器) Caspases (Caspase-3、-6、-7), 诱发大量底物的裂解^[3], 引起细胞形态、代谢的改变, 最终诱发凋亡, 清除细胞。Caspases 的活化受到多个水平的调节, 如衔接蛋白介导的活化作用、翻译后修饰 (包括磷酸化、亚硝基化、泛素化等)^[4]。多种磷酸化现象起着调制

Caspases 信号通路的直接作用, 其中包括蛋白激酶介导的磷酸化。

1.1 Caspase-9 磷酸化

Cardone 等首次报道 Akt (protein kinase B, PKB/Akt) 对 Caspase-9 的磷酸化作用^[5]。Akt (protein kinase B, PKB/Akt) 磷酸化并抑制 Caspase-9 的活性, 磷酸化位点为丝氨酸 196 (S196)^[5]。但 S196 在物种间不够保守, 未能发现小鼠 Akt 磷酸化 Caspase-9^[6]。后来报道 Caspase-9 更可靠的磷酸化位点为苏氨酸 125 (T125), 细胞外调节蛋白激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 及细胞周期素依赖性激酶 1 (cyclin-dependent kinase 1, Cdk1) 均可磷酸化 T125 并抑制 Caspase-9 激活^[7]。双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶 1A (dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation-regulated kinase A1, DYRK1A) 与 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 同样磷酸化 T125^[8]。在神经发育过程中 DYRK1A 可保护视网膜细胞, 抑制凋亡^[8]。Caspase-9 的其他磷酸化位点有酪氨酸 153 (Y153)、丝氨酸 144 (S144)、丝氨酸 348 (S348)。PKC ζ 磷酸化 Y153 可增强 Caspase-9 活性^[4]。

1.2 Caspase-2 磷酸化

在进化中高度保守的 Caspase-2, 是酪蛋白激酶 2 (casein kinase, CK2)、钙调素依赖性蛋白激酶 II (calmodulin-dependent protein kinase type II, CaMKII) 以及 DNA 依赖性蛋白激酶 (DNA-dependent protein kinase, DNA-PK) 的底物。CK2 作为一个组成型激活的激酶, 可以磷酸化 Caspase-

^{*} [基金项目] 2014 年济宁医学院青年基金项目 (编号: JYQ14KJ19)

[△] [通信作者] 白波, E-mail: bbai@mail.jnmc.edu.cn

2 的 S157 位点,这一位点位于 Caspase 招募结构域与大亚基的连接区域,从而阻止 Caspase-2 的二聚化以及二聚化后的活化^[9]。若 S157 磷酸化作用缺失, Caspase-2 可通过非依赖 p53 可诱导的死亡区域蛋白(p53-induced protein with a death domain, PIDD)结构域的方式实现自体活化,这提示 CK2 可持续抑制 Caspase-2 活化^[9]。Nutt 等以非洲爪蟾卵细胞提取物为实验对象,发现 CaMKII 磷酸化 Caspase-2 的 S135,从而抑制其激活^[10]。随着卵细胞提取物逐渐耗尽储备的营养物质, S135 的磷酸化也逐渐减弱,最终 Caspase-2 激活并进入凋亡程序,细胞色素 C 由线粒体释放, Caspase-3 激活。这些细胞凋亡的生物化学反应可由磷酸戊糖途径或者添加磷酸戊糖途径产物之一 NADPH 来阻止,这表明 CaMKII 介导的 S135 磷酸化与新陈代谢相关^[10]。Caspase-2 S135 的同源区域以及它的侧链残基在哺乳动物中保守,因此, Caspase-2 的磷酸化作用可能是一种生物进化中保留的方式,联系细胞代谢状态与细胞凋亡途径。但也有研究表明,在亚致死性 DNA 损伤的情况下, Caspase-2 的 S122 位点(据 Caspase-2 的最新氨基酸序列应为 S139)可被 DNA-PK 磷酸化而激活,诱发细胞周期停滞,而非导致细胞凋亡^[11]。

1.3 Caspase-8 磷酸化

已证实, Caspase-8 通过酪氨酸磷酸化来进行活性调控,而非丝/苏氨酸磷酸化。Src 家族的酪氨酸激酶 Src、Fyn、Lyn 磷酸化 Caspase-8 的 Y380 位点并抑制其活性。Y380 磷酸化可抑制 Fas 诱导的 Caspase-8 激活,并调节抗凋亡信号。Lyn 除了磷酸化 Caspase-8 的 Y380,还可磷酸化 Y465,同样抑制其活性^[12]。Caspase-8 除了参与细胞凋亡,也参与调控细胞迁移与黏附, Caspase-8 若表达缺失将导致细胞移动性减弱^[13]。Caspase-8 Y380 磷酸化不仅可以抑制凋亡,促进细胞迁移,还可调节胚胎发育以及肿瘤发展。

1.4 Caspase-3 磷酸化

蛋白激酶既可以作用于启动型 Caspases 调控凋亡启动,还可以通过直接作用于执行型 Caspases 调制凋亡信号。如 Caspase-3 的磷酸化位点为 S150,表达于其大亚基,并且在其他启动型与执行型 Caspases 中高度保守(Caspase-1、-2、-4、-5、-7、-8、-9)。P38 MAPK 可磷酸化 Caspase-3 S150 并抑制其活性,还可磷酸化 Caspase-8 S364。而蛋白磷酸酶 2A(protein phosphatase 2A, PP2A)结合

Caspase-3 可以抵消 p38 MAPK 的磷酸化作用,使 S150 去磷酸化^[14]。PKC δ 也可以磷酸化 Caspase-3,增强其活性,但磷酸化位点尚不明确^[15]。值得注意的是, PP2A A α 亚基以及 PKC δ 同时又是 Caspase-3 的底物, Caspase-3 可以水解这些酶,从而增强两者活性,形成正反馈放大 Caspase-3 的作用,放大凋亡信号。

1.5 其他凋亡调节子磷酸化

蛋白激酶还可以通过作用于 Caspase 结合蛋白等其他凋亡调节子,间接调节 Caspases 活性。如 p53 肿瘤抑制因子可通过多个通路被多种蛋白激酶磷酸化从而改变功能性质。促凋亡蛋白 Bad 同样也可被多种蛋白激酶磷酸化^[16],依据蛋白激酶及磷酸化位点的不同,磷酸化可促进或者抑制其促凋亡效应。

2 Caspases 对蛋白激酶的作用

有些蛋白激酶本身即 Caspases 的底物, Caspases 被激活后可进一步作用于蛋白激酶,引起下游信号的改变,从而发挥生物学效应。多种蛋白激酶如 PKC δ ,可被 Caspases 裂解激活,从而加快凋亡进程。蛋白激酶的激活机制包括催化结构域与抑制结构域因裂解而分离,裂解产物的重分布,及裂解后底物亲和性改变。但是首要的, Caspases 裂解蛋白激酶的产物必须能正确折叠为活化形式,具有稳定的催化功能,并且耐受进一步的降解。Dix 等^[17]报道,约 35% 的裂解产物具有显著的稳定性。如细胞周期素 25A(cell division cycle 25A, CDC 25A)被 Caspase 裂解后的产物比其原长片段蛋白更稳定,并且蛋白激酶的 Caspase 裂解位点位于两结构域的链接区。因此,仍可得到近乎完整的结构域片段^[17],这可能是裂解产物在功能上高度稳定的原因之一。

以 PKC 为例, Caspase-3 可裂解 PKC 的 δ 、 ϵ 、 ζ 、 θ 、 η 、 μ 几个亚型,分离酶结构域与自抑结构域,从而产生组成型激活酶蛋白片段。如 PKC δ 具有 N 端膜靶向结构域、C 端核定位信号(nuclear localization signal, NLS),经 Caspase 裂解后的片段可以定位于细胞核,并磷酸化多种蛋白如核纤层蛋白 B(lamin B)、DNA-PK、p53、p73 β 、细胞周期调控蛋白 9(cell cycle checkpoint control protein 9, Rad9)^[18], PKC δ 的核内积聚对诱发凋亡至关重要。Caspase 裂解 PKC δ 的产物同样可以移位于线粒体,磷酸化抗凋亡 Bcl-2 家族成员髓样细胞白

血病-1 蛋白(myeloid cell leukemia-1, Mcl-1)^[19]。

PKC δ 等蛋白激酶经 Caspases 水解后可以增强其促凋亡活性,帮助执行程序性细胞死亡。Caspase 介导的水解同样可能使激酶失活,从而终止存活信号,如黏附激酶(focal adhesion kinase, FAK)以及 Akt。Bachelder 等发现,过表达的野生型 Akt 可以由 Caspases 裂解失活,而 Akt 突变型蛋白不能被 Caspases 裂解,因而明显减弱或延迟细胞凋亡^[20]。核转录因子 NF- κ B 信号通路中的多种成分均为 Caspases 的靶点, Caspases 可使 NF- κ B 信号通路失活,阻断存活信号^[21]。另外, Caspase 裂解激活 NF- κ B 抑制因子(inhibitor of NF- κ B, I κ B α),进一步阻断存活信号^[21]。上述研究结果提示 Caspase 介导的促存活蛋白激酶失活对凋亡起着重要作用。

3 蛋白激酶对 Caspase 底物的磷酸化作用

蛋白激酶与 Caspases 的相互作用远远超出其各自单独作用,蛋白激酶除了磷酸化 Caspases,还可直接磷酸化 Caspases 的底物,明显改变底物对 Caspases 裂解的敏感性。如 Akt 可磷酸化 MST1(mammalian sterile20-like kinase 1)的 T387 位点,从而抑制 MST1 被 Caspases 水解^[22]。蛋白激酶 CK1、CK2 磷酸化 Bid 的 T58、S61、S64 3 个位点,与 Caspases 的裂解位点相邻,保护 Bid 免于 Caspase-8 裂解^[23]。肿瘤抑制因子 PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)可由 CK2 磷酸化而免受 Caspase-3 裂解。磷脂酶 C- γ 1(phospholipase C- γ 1, PLC γ 1)为 Caspase-3 与 Caspase-7 的底物,其磷酸化位点酪氨酸 771(Y771)与 Caspases 裂解位点相邻, PLC γ 1 磷酸化后对 Caspases 裂解作用的敏感性将减弱。另有 Presenilin-2、Max、Connexin 45.6、Nogo-B 等 Caspases 的底物,在 Caspases 裂解位点的临近残基被磷酸化后可阻断 Caspases 裂解,从而参与调制细胞存活或凋亡。

磷酸化除了可以抑制 Caspase 介导的底物水解,同样可以增强 Caspases 的作用,最终抑制或者促进凋亡,取决于底物的性质。如激酶 Src 磷酸化 Caspase-3 酪氨酸 332(Y332)位点后可以增强 Caspase-3 对 PKC δ 的裂解^[24]。C-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)磷酸化 Bcl-2 家族蛋白 Bim_{EL}后, Bim_{EL}对 Caspase-3 裂解的敏感性增强^[25]。

4 应用

在蛋白激酶与 Caspases 交互作用的情况下,分别检测蛋白激酶家族的共有识别序列以及 Caspases 家族的共有识别序列,结果提示两者共有识别序列可能存在重叠,并且多种蛋白磷酸化的位点临近 Caspases 的裂解位点。因为天冬氨酸为 Caspases 的裂解位点,这一点提示蛋白激酶与 Caspases 的识别序列如确有重叠,其主要特异性识别序列可能为酸性氨基酸残基,可能包括嗜酸性蛋白激酶(如蛋白激酶 CK1、CK2)的识别序列。

CK2 是蛋白激酶网络中的一个组成部分,已发现 CK2 可以通过磷酸化机制保护多种胞内蛋白质。CK2 可磷酸化 Bid、Max、PTEN、Caspase-9 等,使其免于其他 Caspases 的裂解。既然 CK2 可保护某些蛋白免于 Caspases 裂解,那么增高的 CK2 可能会促进细胞存活;CK2 水平降低将致细胞对凋亡刺激更敏感。Guo 等报道 CK2 表达升高明显增强凋亡刺激后前列腺癌细胞的存活^[26]。另有大量报道肿瘤细胞的存活必需 CK2。而用抑制剂抑制 CK2 活性或用 siRNA/RNAi 抑制其表达,都会使细胞对多种凋亡刺激更敏感。

多种肿瘤包括乳腺癌、膀胱癌、肺癌、白血病等,CK2 活性异常增高。采用基因表达连续分析(serial analysis of gene expression, SAGE)的方法检测在转移性肿瘤组织中表达上调的基因,结果显示多种组织来源的肿瘤均有 CK2 表达异常增高。虽然目前 CK2 的胞内调节机制尚未完全阐明,但有相当多的证据表明,CK2 为组成型激活。某些蛋白激酶需要磷酸化等刺激才可活化,而 CK2 表达时其催化亚基即具有催化活性,不需要额外的刺激。因此,可以推测在白血病细胞等肿瘤细胞中 CK2 的异常增高,会导致生理性 CK2 底物超磷酸化。另外,异常过表达的 CK2 若同时伴随其亚细胞分布的变化,出现在生理情况下本不表达的区域,CK2 将磷酸化非典型底物,即正常 CK2 水平不会磷酸化的蛋白将被磷酸化。因此,不论 CK2 水平的异常增高磷酸化的是生理性底物或病理性底物,都可能导致对凋亡刺激的反应降低及细胞存活增强。上述研究结果指示 CK2 有潜力成为分子治疗靶点。

5 小结与展望

已证实多种疾病都与蛋白激酶及其调制的信

号转导有关,蛋白激酶已经成为一大类潜在的治疗靶点。例如,蛋白激酶抑制剂伊马替尼可特异的抑制 BCR-ABL 蛋白激酶,目前已成功地应用于慢性髓细胞性白血病的治疗。虽然有多种蛋白激酶抑制剂具有应用于分子靶向治疗的潜力,但是困难同样存在。首先,需要克服蛋白激酶抑制剂的靶点外效应。靶点外效应可能是因为靶向蛋白激酶与其超家族其他成员甚至其他类激酶具有结构或者功能上的共同点,因此造成某一激酶抑制剂的作用牵涉到其他酶类。例如,有一类蛋白激酶抑制剂是靶向于激酶的催化位点,竞争性抑制与 ATP 的结合,因此,靶点外效应可能源自抑制剂对其他 ATP 结合蛋白的交叉作用。其次,磷酸化作为一种基础调节机制无处不在,许多蛋白激酶具有多效性,并参与多种生理病理反应,包括正常细胞生理稳态的维持。因此,尽管已经发现多种蛋白激酶在某些疾病状态下功能紊乱,具有成为治疗靶点的潜力,仍需要首先明确抑制这些酶类对正常细胞功能有怎样的影响。

除蛋白激酶外,细胞内另有 Caspases 网络参与凋亡的起始与执行,调节细胞存活,Caspases 网络的紊乱可诱发细胞存活状况的改变。但是以 Caspases 为治疗靶点也有困难,因为 Caspases 家族成员也有结构和功能上的共性,因此难以选择性的靶向某一特异的 Caspase 成员。除了参与凋亡,Caspases 同样参与分化等非细胞死亡或凋亡的过程,提示我们需要区分 Caspases 在生理稳态以及疾病状态时的作用。

Caspases 与蛋白激酶存在交互作用,磷酸化可以保护 Caspases 及其底物免于裂解,致使细胞对凋亡刺激反应减弱、细胞存活增强。一方面,CK2 等蛋白激酶表达增高或活性增强,使 Caspases 及其底物裂解减少,细胞对凋亡刺激敏感性下降,这可能是肿瘤发生的机制之一;另一方面,脑缺血等病理情况可能诱发 CK2 等蛋白激酶活性减弱、表达下调,使细胞对凋亡刺激反应增强。因此,明确蛋白激酶网络与 Caspases 网络的交互作用,两者在生理与病理情况下的调节机制具有至关重要的意义。

参考文献:

[1] Sun L, Wang X. A new kind of cell suicide: mechanisms and functions of programmed necrosis[J]. Trends Biochem Sci, 2014, 39(12): 587-593.

[2] Cho Y S. Perspectives on the therapeutic modulation of an alternative cell death, programmed necrosis[J]. Int J Mol Med, 2014, 33(6): 1401-1406.

[3] Almagro M C, Vucic D. Necroptosis: Pathway diversity and characteristics[J]. Semin Cell Dev Biol, 2015, 39: 56-62.

[4] Fiandalo M V, Kyprianou N. Caspase control: protagonists of cancer cell apoptosis[J]. Exp Oncol, 2012, 34(3): 165-175.

[5] Cardone M H, Roy N, Stennicke H R, et al. Regulation of cell death protease Caspase-9 by phosphorylation[J]. Science, 1998, 282(5392): 1318-1321.

[6] Fujita E, Jinbo A, Matuzaki H, et al. Akt phosphorylation site found in human Caspase-9 is absent in mouse Caspase-9[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 264(2): 550-555.

[7] Wu W, Ye H, Wan L, et al. Millepachine, a novel chalcone, induces G2/M arrest by inhibiting CDK1 activity and causing apoptosis via ROS-mitochondrial apoptotic pathway in human hepatocarcinoma cells in vitro and in vivo[J]. Carcinogenesis, 2013, 34(7): 1636-1643.

[8] Mavropoulos A, Orfanidou T, Liaskos C, et al. p38 MAPK Signaling in Pemphigus: Implications for Skin Autoimmunity[J]. Autoimmune Dis, 2013, 2013: 728529.

[9] Wu L, Xi Z, Guo R, et al. Exogenous ARC down-regulates caspase-3 expression and inhibits apoptosis of broiler chicken cardiomyocytes exposed to hydrogen peroxide[J]. Avian Pathol, 2013, 42(1): 32-37.

[10] McCoy F, Darbandi R, Chen S I, et al. Metabolic regulation of CaMKII protein and caspases in *Xenopus laevis* egg extracts[J]. J Biol Chem, 2013, 288(13): 8838-8848.

[11] Shi M, Vivian C J, Lee K J, et al. DNA-PKcs-PIDDosome: a nuclear Caspase-2-activating complex with role in G2/M checkpoint maintenance[J]. Cell, 2009, 136(3): 508-520.

[12] Pozzesi N, Fierabracci A, Thuy T T, et al. Pharmacological modulation of caspase-8 in thymus-related medical conditions[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2014, 351(1): 18-24.

[13] Salvesen G S, Walsh C M. Functions of caspase 8: the identified and the mysterious[J]. Semin Immunol, 2014, 26(3): 246-252.

[14] Alvarado-Kristensson M, Andersson T. Protein phosphatase 2A regulates apoptosis in neutrophils by dephosphorylating both p38 MAPK and its substrate Caspase 3[J]. J Biol Chem, 2005, 280(7): 6238-6244.

[15] Webster C R, Johnston A N, Anwer M S. Protein kinase C δ protects against bile acid apoptosis by suppressing proapoptotic JNK and BIM pathways in human and rat hepatocytes[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2014, 307(12): G1207-1215.

[16] Winter P S, Sarosiek K A, Lin K H, et al. RAS signaling promotes resistance to JAK inhibitors by suppressing BAD-mediated apoptosis[J]. Sci Signal, 2014, 7(357): ra122.

[17] Chondrogianni N, Petropoulos I, Grimm S, et al. Protein damage, repair and proteolysis[J]. Mol Aspects Med, 2014, 35: 1-71.

[18] Iitaka D, Moodley S, Shimizu H, et al. PKC δ -iPLA2-PGE2-PPAR γ signaling cascade mediates TNF- α induced Claudin 1

- expression in human lung carcinoma cells[J]. *Cell Signal*, 2015, 27(3):568-577.
- [19] Morales-Cano D, Calviño E, Rubio V, et al. Apoptosis induced by paclitaxel via Bcl-2, Bax and caspases 3 and 9 activation in NB4 human leukaemia cells is not modulated by ERK inhibition[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2013, 65(7-8):1101-1108.
- [20] Bachelder R E, Wendt M A, Fujita N, et al. The cleavage of Akt/protein kinase B by death receptor signaling is an important event in detachment-induced apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(37):34702-34707.
- [21] Hussain A R, Ahmed S O, Ahmed M, et al. Cross-talk between NFκB and the PI3-kinase/AKT pathway can be targeted in primary effusion lymphoma (PEL) cell lines for efficient apoptosis[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e39945.
- [22] Du X, Shi H, Li J, et al. Mst1/Mst2 regulate development and function of regulatory T cells through modulation of Foxo1/Foxo3 stability in autoimmune disease[J]. *J Immunol*, 2014, 192(4):1525-1535.
- [23] Koch S, Capaldo C T, Hilgarth R S, et al. Protein kinase CK2 is a critical regulator of epithelial homeostasis in chronic intestinal inflammation[J]. *Mucosal Immunol*, 2013, 6(1):136-145.
- [24] Lu W, Lee H K, Xiang C, et al. The phosphorylation of tyrosine 332 is necessary for the Caspase 3-dependent cleavage of PKCδ and the regulation of cell apoptosis[J]. *Cell Signal*, 2007, 19(10):2165-2173.
- [25] Wiens O, Xia D, von Schubert C, et al. Cell cycle-dependent phosphorylation of *Theileria annulata* schizont surface proteins[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):e103821.
- [26] Guo C, Yu S, Davis A T, et al. A potential role of nuclear matrix-associated protein kinase CK2 in protection against drug-induced apoptosis in cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(8):5992-5999.

(收稿日期 2015-02-22)

(上接第 280 页)瘤细胞生长过程的影响。上述问题的进一步阐明均可以为肥胖、糖尿病以及癌症的治疗开辟新的途径。

参考文献:

- [1] Boughton C K, Murphy K G. Can neuropeptides treat obesity? A review of neuropeptides and their potential role in the treatment of obesity[J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 170(7):1333-1348.
- [2] Tinoco A B, Valenciano A I, Gómez-Boronat M, et al. Two cholecystokinin receptor subtypes are identified in goldfish, being the CCKAR involved in the regulation of intestinal motility[J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2015, 187:193-201.
- [3] Cuntz U, Enck P, Frühauf E, et al. Cholecystokinin revisited: CCK and the hunger trap in anorexia nervosa[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1):e54457.
- [4] Rosenbaum D M, Rasmussen S G, Kobilka B K. The structure and function of G-protein-coupled receptors[J]. *Nature*, 2009, 459(7245):356-363.
- [5] Moreno J L, Holloway T, González-Maeso J. G protein-coupled receptor heterocomplexes in neuropsychiatric disorders[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2013, 117:187-205.
- [6] Vanhoutte P M, Humphrey P P, Spedding M. International union of pharmacology recommendations for nomenclature of new receptor subtypes[J]. *Pharmacol Rev*, 1996, 48(1):1-2.
- [7] Koszycki D, Prichard Z, Fiocco A J, et al. CCK-B receptor gene and response to cholecystokinin-tetrapeptide in healthy volunteers[J]. *Peptides*, 2012, 35(1):9-13.
- [8] Nishimura S, Bilgüvar K, Ishigame K, et al. Functional synergy between cholecystokinin receptors CCKAR and CCKBR in mammalian brain development[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4):e0124295.
- [9] Hannibal J, Hundahl C, Fahrenkrug J, et al. Cholecystokinin (CCK)-expressing neurons in the suprachiasmatic nucleus: innervation, light responsiveness and entrainment in CCK-deficient mice[J]. *Eur J Neurosci*, 2010, 32(6):1006-1017.
- [10] Konno K, Takahashi-Iwanaga H, Uchigashima M, et al. Cellular and subcellular localization of cholecystokinin(CCK)-1 receptors in the pancreas, gallbladder, and stomach of mice[J]. *Histochem Cell Biol*, 2015, 143(3):301-312.
- [11] Mohammad S, Ozaki T, Takeuchi K. Functional compensation between cholecystokinin-1 and-2 receptors in murine paraventricular nucleus neurons[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(47):39391-39401.
- [12] Chang F Y, Lu C L, Chen T S, et al. The role of cholecystokinin 1 receptor in prolactin inhibited gastric emptying of male rat[J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2012, 18(4):385-390.
- [13] Nguyen M V, Jordal A E, Espe M, et al. Feed intake and brain neuropeptide Y(NPY) and cholecystokinin(CCK) gene expression in juvenile cobia fed plant-based protein diets with different lysine to arginine ratios[J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2013, 165(3):328-337.
- [14] 刘路路, 蔡欣, 张宁, 等. GPCR 偏向性配体介导的选择性功能[J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(12):1643-1647.
- [15] Chen X, Bai B, Tian Y, et al. Identification of serine 348 on the apelin receptor as a novel regulatory phosphorylation site in apelin-13-induced G protein-independent biased signaling[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(45):31173-31187.
- [16] Lo C C, Langhans W, Georgievsky M, et al. Apolipoprotein AIV requires cholecystokinin and vagal nerves to suppress food intake[J]. *Endocrinology*, 2012, 153(12):5857-5865.
- [17] Duca F A, Zhong L, Covasa M. Reduced CCK signaling in obese-prone rats fed a high fat diet[J]. *Horm Behav*, 2013, 64(5):812-817.

(收稿日期 2015-06-09)