

文章编号:1004-0374(2005)01-0049-06

线粒体渗透性转变孔结构和功能的研究进展

郭虹霞, 余长纓, 陈 静, 蒋华良, 沈 旭*

(中国科学院上海生命科学研究院上海药物研究所, 中国科学院研究生院, 上海 201203)

摘要:非正常生理浓度的Ca²⁺和氧化应激等刺激线粒体渗透性转变孔(mitochondria permeability transition pore, MPTP)开放,使线粒体形态功能发生改变,被释放的细胞色素c和凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)等参与到caspase信号通路中,诱导细胞发生凋亡。本文在MPTP的主要组成成分、两种不同的结构功能模型、抑制剂对MPTP的抑制机制和缺血/再灌注及缺血预适应对MPTP开放的影响等方面的研究进展作一综述。

关键词:线粒体渗透性转变孔;腺苷酸转运蛋白;亲环素D;电压依赖性阴离子通道;环孢素A
中图分类号:Q244 **文献标识码:**A

Progress in the studies of the structure and function of mitochondria permeability transition pore

GUO Hong-Xia, YU Chang-Ying, CHEN Jing, JIANG Hua-Liang, SHEN Xu*

(Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Graduate School of CAS, Shanghai 201203, China)

Abstract: Abnormally high concentration of Ca²⁺ and oxide stress can stimulate the opening of the mitochondria permeability transition pore (MPTP) and cause the change of mitochondria shape and function. The factors released by mitochondria, such as cytochrome c and AIF (apoptosis-inducing factor) involve in the signaling pathway of caspases and induce cell apoptosis. This article describes the recent progress in the studies of the main components and two different models of the MPTP, the mechanism of the inhibition of CSA and SfA to MPTP and the influence of ischemia/reperfusion and ischaemic preconditioning to the opening of MPTP.

Key words: MPTP (mitochondria permeability transition pore); ANT (adenine nucleotide translocator); CypD (cyclophilin D); VDAC (voltage-dependent anion channel); CSA (Cyclosporin A)

前言

细胞在应激状态或受损后Ca²⁺浓度超过正常生理范围时,线粒体膜上会形成一种通道,即线粒体渗透性转变孔(mitochondria permeability transition pore, MPTP)。MPTP使线粒体膜的通透性发生改变,造成线粒体膜电位降低、ATP衰竭、氧化磷酸化去偶联、线粒体大幅度肿胀、外膜破裂、内外膜间促凋亡因子的释放等等,从而细胞发生凋亡

或坏死^[1]。MPTP的开放程度是决定细胞凋亡或坏死程度的重要因素。目前普遍认为MPTP主要由三种蛋白共同组成:腺苷酸转运蛋白(adenine nucleotide translocator, ANT)、电压依赖性阴离子通道(voltage-dependent anion channel, VDAC)和亲环素D(cyclophilin D, CypD)^[2],但也有研究者提出了其他观点。虽然以前国内曾有文章对MPTP进行过介绍^[3],但近年来这方面的研究有了比较大的进展,

收稿日期:2004-03-19;修回日期:2004-04-26

基金项目:国家自然科学基金项目(20372069和20472095)和国家“973”项目(2004CB518905)

作者简介:郭虹霞(1980—),女,硕士研究生;余长纓(1976—),男,博士研究生;陈静(1976—),女,研究实习员;蒋华良(1965—),研究员,博导;沈旭(1964—),男,研究员,博导,*通讯作者。

因此,本文针对近两年来的MPTP结构和调控的最新进展进行综述。

1 MPTP的主要组成成分

1.1 ANT ANT位于线粒体的内膜,能介导ADP和ATP的交换,将ATP转运到细胞质中。ANT有三种形式:ANT1、ANT2、ANT3。它们分别是由不同的受调控的核基因所编码,其同源程度为77%~79%^[4]。这些基因在人、牛和鼠组织中的表达模式是相似的。不同形式的ANT具有不同的动力学特征,因此,哺乳动物ANT基因家族的组织特异性表达为依赖于氧化磷酸化的组织分化提供了分子基础。

ANT具有两种构象:C构象和M构象。ANT就是通过两种构象相互转变来转运腺苷酸的。在C构象中,ANT与核苷酸结合的亲水环朝外面向细胞质;而M构象的ANT,该亲水环则朝里面向线粒体的基质^[5]。

ANT上有三个半胱氨酸:Cys56、Cys159、Cys256,其中Cys159位于ADP结合区域,Cys56与Bermardi^[6]和Halestrap等^[7]推测的CypD结合位点Pro61接近。胂和氧化苯砷(phenylarsine oxide, PAO)能使Cys159和Cys56或Cys256和Cys56之间交联起来,但不会形成ANT二聚体。当Cys159和Cys56交联时,会同时影响ADP和CypD与ANT的结合^[7]。

对ANT晶体分析,ANT的跨膜结构域有6个跨膜的 α 螺旋,共同形成一个深深的锥形凹陷。这个空穴的直径为2nm,深3nm。连接奇数和偶数号螺旋的序列还包含一段与膜平行的短的 α 螺旋(h12, h34和h56)与ANT的关闭构象(closed conformation)有关。由于脯氨酸的存在,奇数号跨膜螺旋都发生明显的扭曲。这些脯氨酸都位于保守的区域PX(D/E)XX(K/R)。所有位于空穴底部的碱性氨基酸残基都是高度保守的,可能与带负电的核苷酸结合有关^[8]。

一系列原凋亡蛋白,包括Bax与HIV的Vpr蛋白,和抗凋亡蛋白,包括Bcl-2与细胞巨化病毒的vMIA蛋白能和ANT直接作用^[9-10]。过度表达ANT-1能诱导细胞凋亡,但这种现象能被共表达的CypD所抑制^[11]。

最近又有研究表明,ANT是组成MPTP的非必需成分。没有ANT蛋白的线粒体在外界刺激下仍能改变膜的渗透性,导致细胞色素c的释放,但是这需要更高浓度的 Ca^{2+} ,而且不受到ANT配体的调节。缺失ANT蛋白的肝细胞仍然能对各种诱导细胞

死亡的因子产生反应^[12]。

1.2 VDAC VDAC位于线粒体外膜,是由16个 β 折叠片组成的 β 折叠桶^[13]。VDAC在电压低于30mV的时候,分离的VDAC插入到脂质体后能形成直径为4nm的孔,电导系数较大,此时的孔具有阴离子选择性;当电压高于30mV时,孔的直径减小到2nm,电导系数也减小,变成了阳离子选择性^[14]。VDAC在细胞内有三种形式,其中VDAC1为主要形式^[15]。VDAC和ANT的C构象结合后会发​​生构象变化^[16]。己糖激酶、肌酸激酶、表面苯并二氮受体和原凋亡蛋白Bax等可以和VDAC结合,从而影响MPTP的开放^[9,17]。

1.3 CypD CypD是亲环素家族成员之一,存在于线粒体基质中。CypD的N末端有一段线粒体定位序列^[18],这段序列在蛋白转运到线粒体后被切除。完整的CypD的蛋白具有两个切割位点,分别可以得到17.6kD和18.6kD两种成熟产物。CypD也具有氨基脯氨酸顺反异构酶活性,能催化Xaa-Pro之间肽键的顺反异构反应(Xaa表示任一氨基酸)。CSA通过和CypD结合来阻遏孔的开放,但是也有数据表明,在很高的 Ca^{2+} 浓度下,MPTP孔的开放不需要CypD的结合^[19-20]。

2 MPTP和VDAC-ANT-CypD复合物的发现

最早发现ANT与MPTP有关的证据是稳定ANT C构象的羧基苍术甙(carboxyatractyloside, CAT)使线粒体渗透性(MPT)对 Ca^{2+} 敏感,而稳定ANT M构象的米酵酸菌(bongkrekic acid, BKA)使MPT对 Ca^{2+} 不敏感^[19,21]。MPTP的形成被亲环素的配体环孢素A(cyclosporin A, CSA)所抑制^[22]。用放射性标记的CSA证明了CypD与MPTP有关^[23]。Woodfield等^[24]将过表达的GST-CypD融合蛋白做成CypD亲和柱,把纯化过的线粒体内膜用Triton-X100溶解后过柱,发现与CypD结合的蛋白就是ANT。而Crompton等^[25]用类似的方法,把线粒体用两性离子变性剂CHAPS溶解后过柱,发现与CypD结合的蛋白不仅有ANT,还有ANT-VDAC复合物。Crompton等由此推论,CypD不仅能与ANT-VDAC复合物结合,还可能与ANT单独结合。纯化的VDAC、ANT和CypD融合蛋白形成的复合物能插到脂质体的表面。在加入过量的 Ca^{2+} 和无机磷酸盐时,脂质体中的磺酸酯荧光素就被释放出来,但荧光素的释放被CSA所阻遏,这与MPTP的基本特性相一致^[17],进一步证明了VDAC、ANT和CypD是组成MPTP的核心部分。

3 线粒体和MPTP在细胞凋亡中所起的作用

1994年, Newmeyer等发现细胞核在非洲爪蟾卵母细胞提取液中发生凋亡需要线粒体的存在, 这种现象初步表明线粒体在细胞凋亡过程中起重要作用。细胞凋亡是通过蛋白水解酶caspases来执行完成的。caspases最初表达时是没有活性的原酶(proenzyme)被切掉N端的原结构域(prodomain)后被激活。caspases在结构和功能上分为两类。I类caspases含有一个较长的原结构域, 而II类caspases的原结构域较短。通过接头蛋白的协助, 在I类caspases聚集成复合物的时候, 原结构域被互相剪切而成为有活性的酶。这些有活性的酶又可切掉II类caspases的原结构域, 并迅速将它们激活^[26]。但在有的细胞中, 上游的caspases并不能直接作用于下游的II类caspases, 必须通过线粒体释放间质中的原凋亡因子(pro-apoptotic factors)将上游I类caspases的信号放大, 才能激发caspases的级联反应。在线粒体间质中最早发现的是细胞色素c^[27]。被释放的细胞色素c与胞质蛋白Apaf-1结合后, 聚集上游的caspases形成复合物并使其剪切成活性形式^[28]。

在外界损伤(如缺血/缺血再灌注)和某些化学药品刺激下, 细胞内Ca²⁺浓度增大, 而线粒体中Ca²⁺浓度随细胞质中Ca²⁺的增加而增加, 导致线粒体Ca²⁺过载。多种体内、体外实验证明线粒体外膜上的VDAC和ANT、CypD形成的复合物在Ca²⁺过载和氧化应激等条件下转变成MPTP, MPTP的开放能导致线粒体基质肿胀, 内膜的去极化, 以及细胞色素c、Smac和凋亡诱导因子AIF等其他间质蛋白的释放^[29]。位于细胞质中的肿瘤抑制因子p53是细胞凋亡过程的充分必要条件。p53不需要其他蛋白的存在就能直接活化Bcl-2家族的原凋亡成员Bax, 诱导线粒体膜渗透性改变和线粒体间质蛋白的释放, 导致细胞凋亡, 这一过程与p53的转录因子功能无关^[30]。免疫共沉淀实验和细胞渗透剂的胶联实验都证明了Bax能和VDAC结合。据报道, 缺氧条件下Bax从胞质转位到线粒体上, 并且与PT孔效应物(如Ca²⁺、氧化应激等)协同作用, 释放细胞色素c等促凋亡蛋白。因此, Bax可能通过与VDAC结合, 使VDAC-ANT-CypD复合物转变成MPTP来发挥进一步生理功能^[10]。

4 MPTP结构和功能的两种模型

目前被普遍接受的模型是, MPTP跨越了线粒

体内膜和外膜, 由线粒体外膜上的VDAC、内膜上的ANT和线粒体基质中的CypD共同构成, 受到多种因素的调控, Ca²⁺、NAD(P)⁺、氧化性谷胱甘肽和线粒体需氧代谢的副产品——反应氧种类(reactive oxygen species, ROS)等能促使孔的开放, 而Mg²⁺、小于7的pH值环境以及CSA等能抑制孔的开放^[6,31]。但是这个模型不能解释为什么在只有纯化的ANT或伴有其他蛋白存在的情况下, 体外才能出现孔样的电导现象^[9,21,25]; 为什么三种ANT基因都被敲除的酵母细胞仍能出现MPTP的电导性质^[32]。

MPTP分为两种形式: 调节性和非调节性MPTP。调节性MPTP是典型的MPTP, 需要Ca²⁺来促进其他化学诱导剂的诱导, 并且受到Ca²⁺螯和剂和CSA的抑制。调节性MPTP的开放需要Ca²⁺可能是由于CypD与ANT的相互作用是Ca²⁺依赖性的。非调节性MPTP就不需要Ca²⁺的促进作用, 也不受CSA的抑制, 高浓度的化学诱导剂就能使MPTP开放。但是, 调节性和非调节性MPTP的孔径大小是一样的^[20], 内径约为2~2.5nm, 允许水溶性离子、某些代谢产物和分子量小于1500D的小分子自由通过^[33]。

为了解释上述问题, He和Lemasters^[20]提出了另一模型(图1)。MPTP诱导剂, 如ROS和巯基反应剂等的共同特征就是能进攻膜蛋白, 并使天然膜蛋白发生错误折叠, 膜蛋白的亲水残基插到膜的磷脂双分子层中, 形成一个亲水面。错误折叠的膜蛋白聚集在一起, 它们的亲水面共同组成了一个封闭的水性通道。分子伴侣蛋白, 如CypD和组成这些通道的膜蛋白相结合, 阻止了低分子量溶质穿过通道所形成的电导现象^[20]。CypD的结合体现了对CSA抑制作用和Ca²⁺激活作用的敏感。从这个意义来说, CypD不是促进线粒体渗透的, 而是保护线粒体不受损伤的蛋白, 这与最近发现的CypD基因缺失的细胞对氧化应激更敏感的现象相一致^[34]。其他的分子伴侣也参与了MPTP的调节, 如鼠Hsp25蛋白能推迟调节性和非调节性MPTP的开放^[35]。按照这个理论, 出现在其他膜上的错误折叠的膜蛋白也能形成各种孔道, 如细胞坏死前在质膜上形成的大通道^[36], 拟凋亡过程中内质网的肿胀^[37], 线粒体外膜上形成的特殊的细胞色素c释放孔等^[38]。非调节性MPTP的形成是因为错误折叠的蛋白数远远大于分子伴侣的数目。分子伴侣对CSA敏感, 受到Ca²⁺的调节, 非调节性MPTP由于缺乏分子伴侣, 而变得对CSA和Ca²⁺不敏感了^[20]。

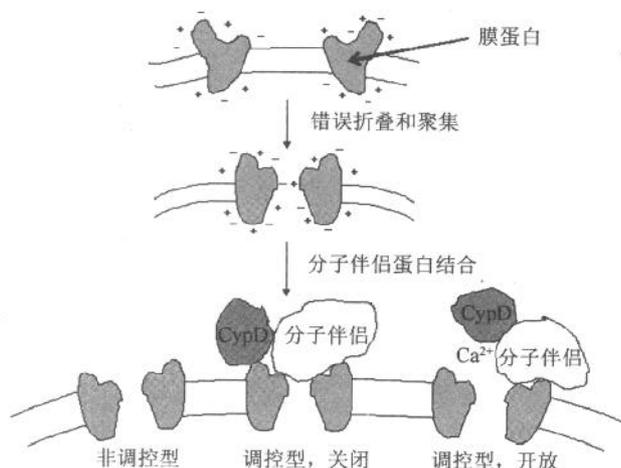


图1 MPTP孔道形成和开启控制模型^[20]

膜蛋白错误折叠后形成通道,分子伴侣蛋白与错误折叠的膜蛋白结合,形成调控型通道,阻止通道的开放;但在高浓度 Ca^{2+} 存在的条件下,调控型通道开放。

5 热休克蛋白抑制MPTP的开放

热休克蛋白能抑制由50mM $CaCl_2$ 和5mM $HgCl_2$ 或单独由200mM $CaCl_2$ 诱导的线粒体MPTP的开放,线粒体肿胀到最大程度的一半时的时间比对照推迟了15分钟。热休克蛋白还提高了由高剂量的 $HgCl_2$ 和mastoparan诱导的非调控性PT的开放(Ca^{2+} 非依赖/CSA不敏感型)。热休克处理降低了27%的ROS的形成,但是并不改变线粒体呼吸作用、膜电位和 Ca^{2+} 的摄入^[35]。

蛋白印记实验表明,小鼠肝细胞被热处理后,只有Hsp25含量增加,而Hsp10、Hsp60、Hsp70、Hsp75、CypD和VDAC等蛋白含量并不增加^[35]。Hsp25通过两方面来调节线粒体MPTP的开放。首先,Hsp25的表达能减少ROS的产量,防止由此产生的不利后果,如线粒体去极化和细胞色素c的释放等。其次,Hsp25直接参与了和分子伴侣有关的孔道电导的调节。He和Lemasters^[20]最近提出了一个孔道形成和开启控制的模型(图1),在这个模型里,应力能诱导线粒体膜蛋白的错误折叠,将蛋白的亲水残基暴露在膜的磷脂双分子层(bilayer phase)中,然后簇集形成水溶液的通道,允许离子和分子量小于1500D的小分子通过。Hsp25发挥了分子伴侣的作用,与线粒体膜蛋白结合,阻止了线粒体PT孔的开放。

6 CSA和SfA抑制线粒体MPTP的区别

如上所述,CSA能与CypD结合,抑制CypD的顺反异构酶的活性,并且阻止CypD与ANT的结

合,进而影响MPTP的开放^[22,38-39]。Clarke等^[40]发现与CSA功能相似的另一种免疫抑制剂SfA(Sangliferin A)也能和CypD结合,抑制CypD顺反异构酶活性,但并不影响CypD和ANT的结合,于是推测CSA和ANT与CypD的同一个位点结合,而SfA则与CypD的另一位点相结合,并通过实验初步证明了这一推测。

CSA对MPTP开放的抑制作用直接与CypD结合的CSA总量成正比^[39,41]。与此不同,SfA的抑制作用只有在SfA的含量超过和CypD的最大结合量的一半时,才能体现。这个现象最可能的解释是,MPTP是由CypD介导构象转变的多亚基复合物,孔的开放需要各个亚基间的协同作用。最简单的模型可能是,ANT以二聚体的形式出现,每一个ANT都必须和一个CypD分子结合,由CypD来诱导MPTP开放所需的ANT构象变化。即使两个CypD分子中的一个和SfA结合了,ANT的构象仍会发生变化,只有两个CypD分子都和SfA结合,ANT的构象变化就不再发生^[40];但是,高浓度的 Ca^{2+} 能诱导不依赖CypD的ANT构象变化^[21],这就是高浓度 Ca^{2+} 在SfA存在条件下也能使MPTP开放的原因。由于线粒体中,CypD的量比ANT的量少得多(例如,心脏细胞线粒体中,CypD的量只稍大于ANT含量的5%),只有很少部分的ANT能与CypD结合。因此,与MPTP开放最有关系的可能是CypD的脯氨酸顺反异构酶活性,而不是CypD和ANT等线粒体膜蛋白的结合作用^[10]。

7 MPTP与缺血/再灌注和缺血预适应

局部组织器官缺血(ischemia)将会损伤实质器官,其损伤程度与缺血时间及残存血流量相关,短期不完全性缺血只引起可逆性损害,而长时间的完全缺血或严重缺血会引起细胞甚至整个组织的死亡。临床上处理缺血性损伤的原则是尽早恢复血液再灌注(reperfusion)使缺血组织和器官重新得到氧的供应,提供代谢所必需的营养物质并清除代谢废物。及时地恢复血液再灌注将有利于减轻缺血损伤,使某些可逆性损伤恢复功能。然而,缺血再灌注也有其不利的一面,某些情况下能导致进一步组织损伤和功能障碍。MPTP的开放不会在短时间缺血过程中出现,而只发生在缺血再灌注过程。心肌缺血过程中出现的糖酵解作用增强会导致细胞中乳酸聚集和pH值降低,于是抑制了进一步的糖酵解和ATP的生产。为了恢复正常的pH值, Na^+/H^+

antipoter 被激活,将 Na^+ 泵入细胞,可是ATP的缺乏使 Na^+/K^+ ATP酶活性降低,不能把细胞内过多的 Na^+ 泵出,破坏了钾钠离子平衡。另外,细胞内 Na^+ 浓度过高后, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiporter的活性降低,不能将 Ca^{2+} 泵出细胞,从而造成细胞内 Ca^{2+} 过载。可是,由于细胞内pH值很低,MPTP并不会真正开放。再灌注使细胞又能进行呼吸,恢复了驱动ATP合成的膜电位和pH值,线粒体里快速积累的 Ca^{2+} 导致了 Ca^{2+} 过载,因此,诱发了MPTP的开放^[42]。

缺血预适应(ischaemic preconditioning, IPC)是指对短暂缺血的快速适应可减慢随后长时间缺血时心肌细胞的死亡速度。目前公认,缺血预适应是迄今保护心肌缺血/再灌注损伤作用最强、效果最为可靠的方法。缺血预适应能抑制30min缺血处理后再灌注的心脏细胞中线粒体MPTP的开放,并增强了随后心脏愈合过程中MPTP的闭合,保护了细胞不发生死亡现象;但是缺血预适应对从细胞中分离出来的线粒体的MPTP没有抑制作用,可能由于这种作用是间接的,缺血预适应通过影响其他因素,如降低 Ca^{2+} 过载或氧化应激来抑制MPTP的开放。保护再灌注损伤最好是减少诱导MPTP开放的因子,而不是直接抑制MPTP^[43]。

综上所述,虽然目前还没有MPTP结构功能的完美模型,但已基本确定,VDAC、ANT和CypD与MPTP密切相关,凡是能与这三种蛋白相互作用的因子,例如抑制CypD的顺反异构酶活性的CSA和SfA、与ANT结合的Bax等都能影响MPTP的形成。由于MPTP的开放在细胞凋亡过程中起重要作用,MPTP的组成成分都可作为新型药物靶点,设计在遭受外界损伤和氧化应激后,抑制MPTP孔开放,保护细胞不发生凋亡或坏死现象的药物。

[参 考 文 献]

- [1] Lemasters JJ, Nieminen AL, Qian T, et al. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy. *Biochem Biophys Acta*, 1998, 1366 (1-2): 177-196
- [2] Crompton M. On the involvement of mitochondrial intermembrane junctional complexes in apoptosis. *Curr Med Chem*, 2003, 10 (16): 1473-1484
- [3] 滕晓华,黄其林,张可成. 线粒体PT孔与细胞凋亡. 国外医学分子生物学分册, 2002, 24 (5): 277-280
- [4] Doerner A, Pauschinger M, Badorff A, et al. Tissue-specific transcription pattern of the adenine nucleotide translocase isoforms in humans. *FEBS Lett*, 1997, 414 (2): 258-262
- [5] Majima E, Ikawa K, Takeda M, et al. Translocation of loops regulates transport activity of mitochondrial ADP/ATP carrier deduced from formation of a specific intermolecular disulfide bridge catalyzed by copper-o-phenanthroline. *J Biol Chem*, 1995, 270 (49): 29548-29554
- [6] Bernardi P. Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers, and permeability transition. *Physiol Rev*, 1999, 79 (4): 1127-1155
- [7] Halestrap AP, McStay GP, Clarke SJ. The permeability transition pore complex: another view. *Biochimie*, 2002, 84 (2-3): 153-166
- [8] Pebay-Peyroula E, Dahout-Gonzalez C, Kahn R, et al. Structure of mitochondrial ADP/ATP carrier in complex with carboxyatractyloside. *Nature*, 2003, 426: 39-44
- [9] Marzo I, Brenner C, Zamzami N, et al. Bax and adenine nucleotide translocator cooperate in the mitochondrial control of apoptosis. *Science*, 1998, 281 (5385): 2027-2031
- [10] Crompton M, Barksby E, Johnson N, et al. Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their involvement in cell death. *Biochimie*, 2002, 84 (5385): 143-152
- [11] Bauer MK A, Schubert A, Rocks O, et al. Adenine nucleotide translocase-1, a component of the permeability transition pore, can dominantly induce apoptosis. *J Cell Biol*, 1999, 147 (7): 1493-1501
- [12] Kokoszka J E, Waymire K G, Levy S E, et al. The ADP/ATP translocator is not essential for the mitochondrial permeability transition pore. *Nature*, 2004, 427: 461-465
- [13] Casadio R, Jacoboni I, Messina A. A 3D model of the voltage-dependent anion channel (VDAC). *FEBS Lett*, 2002, 520 (1-3): 1-7
- [14] Colombini M. A candidate for the permeability pathway of the outer mitochondrial membrane. *Nature*, 1979, 279 (5417): 643-645
- [15] Sampson MJ, Lovell RS, Craigen WJ. The murine voltage-dependent anion channel gene family: conserved structure and function. *J Biol Chem*, 1997, 272 (30): 18966-18973
- [16] Vysokikh MY, Brdiczka D. The function of complexes between the outer mitochondrial membrane pore (VDAC) and the adenine nucleotide translocase in regulation of energy metabolism and apoptosis. *Acta Biochim Pol*, 2003, 50 (2): 389-404
- [17] Beutner G, Rück A, Riede B, et al. Complexes between kinases, mitochondrial porin and adenylate translocator in rat brain resemble the permeability transition pore. *FEBS Lett*, 1996, 396 (2-3): 189-195
- [18] Andreeva L, Heads R, Green C J. Cyclophilins and their possible role in the stress response. *Int J Exp Path*, 1999, 80 (6): 305-315
- [19] Davidson AM, Halestrap AP. Partial inhibition by cyclosporin A of the swelling of liver mitochondria in vivo and in vitro induced by sub-micromolar $[\text{Ca}^{2+}]$, but not by butyrate: evidence for two distinct swelling mechanisms. *Biochem J*, 1990, 268 (1): 147-152
- [20] He LH, Lemasters JJ. Regulated and unregulated mitochondrial permeability transition pores: a new paradigm of pore structure and function? *FEBS Lett*, 2002, 512 (1-3): 1-7
- [21] Brustovetsky N, Klingenberg M. Mitochondrial ADP/ATP

- carrier can be reversibly converted into a large channel by Ca^{2+} . *Biochemistry*, 1996, 35 (26): 8483-8488
- [22] Crompton M, Ellinger H, Costi A. Inhibition by Cyclosporin A of a Ca^{2+} dependent pore in heart mitochondria activated by inorganic phosphate and oxidative stress. *Biochem J*, 1988, 255 (1): 357-360
- [23] Andreeva L, Tanveer A, Crompton M. Evidence for the involvement of a membrane-associated cyclosporin-A-binding protein in the Ca^{2+} -activated inner membrane pore of heart mitochondria. *Eur J Biochem*, 1995, 230 (3): 1125-1132
- [24] Woodfield K, Rück A, Brdiczka D, et al. Direct demonstration of a specific interaction between cyclophilin-D and the adenine nucleotide translocase confirms their role in the mitochondrial permeability transition. *Biochem J*, 1998, 336 (2): 287-290
- [25] Crompton M, Virji S, Ward JM. Cyclophilin-D binds strongly to complexes of the voltage-dependent anion channel and the adenine nucleotide translocase to form the permeability transition pore. *Eur J Biochem*, 1998, 258 (2): 729-735
- [26] Scaffidi C, Schmitz I, Zha J P, et al. Differential modulation of apoptosis sensitivity in CD95 type I and type II cells. *J Biol Chem*, 1999, 274 (3): 22532-22538
- [27] Liu X S, Kim C N, Yang J, et al. Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome C. *Cell*, 1996, 86 (1): 147-157
- [28] Zou H, Henzel W J, Liu X S, et al. Apaf-1, a human protein homologous to *C. elegans* CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. *Cell*, 1997, 90 (3): 405-413
- [29] Wang X D. The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev*, 2001, 15 (22): 2922-2933
- [30] Chipuk J E, Kuwana T, Bouchier-Hayes L, et al. Direct activation of bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. *Science*, 2004, 303 (5660): 1010-1014
- [31] Fontaine E, Bernardi P. Progress on the mitochondrial permeability transition pore: regulation by complex I and ubiquinone analogs. *J Bioenerg Biomembr*, 1999, 31 (4): 335-345
- [32] Lohret T A, Murphy R C, Drgon T, et al. Activity of the mitochondrial multiple conductance channel is independent of the adenine nucleotide translocator. *J Biol Chem*, 1996, 271 (9): 4846-4849
- [33] Crompton M, Costi A. Kinetic evidence for a heart mitochondrial pore activated by Ca^{2+} , inorganic phosphate and oxidative stress. A potential mechanism for mitochondrial dysfunction during cellular Ca^{2+} overload. *Eur J Biochem*, 1988, 178 (2): 489-501
- [34] Lin D T, Lechleiter J D. Mitochondrial targeted cyclophilin D protects cells from cell death by peptidyl prolyl isomerization. *J Biol Chem*, 2002, 277 (34): 31134-31141
- [35] He L H, Lemasters J J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver mitochondria. *J Biol Chem*, 2003, 278 (19): 16755-16760
- [36] Nishimura Y, Lemasters J J. Glycine blocks opening of a death channel in cultured hepatocellular carcinoma cells during chemical hypoxia. *Cell Death Differ*, 2001, 8 (8): 850-858
- [37] Sperandio S, de Belle I, Bredesen D E. An alternative, nonapoptotic form of programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97 (26): 14376-14381
- [38] Shimizu S, Ide T, Yanagida T, et al. Electrophysiological study of a novel large pore formed by Bax and the voltage-dependent anion channel that is permeable to cytochrome c. *J Biol Chem*, 2000, 275 (16): 12321-12325
- [39] Griffiths E J, Halestrap A P. Further evidence that cyclosporin A protects mitochondria from calcium overload by inhibiting a matrix peptidyl-prolyl cis-trans isomerase: implications for the immunosuppressive and toxic effects of cyclosporin. *Biochem J*, 1991, 274 (2): 611-614
- [40] Clarke S J, McStay G P, Halestrap A P. Sangliferin A acts as a potent inhibitor of the mitochondrial permeability transition and reperfusion injury of the heart by binding to cyclophilin-D at a different site from cyclosporin A. *J Biol Chem*, 2002, 277 (38): 34793-34799
- [41] Halestrap A P, Davidson A M. Inhibition of Ca^{2+} -induced large-amplitude swelling of liver and heart mitochondria by cyclosporin is probably caused by the inhibitor binding to mitochondrial-matrix peptidyl-prolyl cis-trans isomerase and preventing it interacting with the adenine nucleotide translocase. *Biochem J*, 1990, 268 (1): 153-160
- [42] Javadov S A, Clarke S J, Das M, et al. Ischaemic preconditioning inhibits opening of mitochondrial permeability transition pores in the reperfused rat heart. *J Physiol*, 2003, 549 (2): 513-524
- [43] Halestrap A P, Clarke S J, Javadov S A. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion—a target for cardioprotection. *Cardiovas Res*, 2004, 61 (3): 372-385

Science 评出 2004 年十大科学突破

Science 杂志评出了 2004 年度的十大科学突破，火星上发现水的证据荣登榜首，其余 9 项研究分别是：最小型人类化石的发现、韩国克隆出人类胚胎、固体冷凝物的研究发现、基因组非编码区的功能研究、脉冲星对的发现、生物多样性减少、对水性质的深入认识、新型健康协作方式帮助贫困人群，及对水滴中的基因组测序鉴定新物种。除了排名第一的研究成果外，其余 9 项排名不分先后。Science 杂志还预测了 2005 年的热点科学领域，包括肥胖症药物、国际人类基因组单倍体图计划，以及“卡西尼-惠更斯”计划对土星卫星“泰坦”的探测。

摘译自 <http://www.sciencemag.org/sciext/btoy2004/>