

ABC 转运蛋白与人类疾病

侯文韬, 王亮, 徐达, 陈宇星, 周丛照

(中国科学技术大学生命科学学院, 安徽合肥 230027)

摘要: ABC 转运蛋白, 即 ATP 结合盒转运蛋白(ATP binding cassette transporters), 是一类广泛存在于生物界的主动运输蛋白. 它由四个结构域组成: 两个跨膜结构域(transmembrane domain, TMD)和两个核酸结合结构域(nucleotide-binding domain, NBD). ABC 转运蛋白通过 NBD 水解三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)将底物逆化学势能经由 TMD 进行跨膜运输. ABC 转运蛋白广泛参与各种生理过程, 因为几乎所有具有生理功能的分子都是 ABC 转运蛋白的底物. 人类基因组共编码 48 个 ABC 转运蛋白, 其功能的异常与人类重大疾病直接相关. 本文简要介绍人类 ABC 转运蛋白的分类和结构特征, 并着重关注人类 ABC 转运蛋白结构与功能研究的最新进展以及与人 类重大疾病的关系.

关键词: ABC 转运蛋白; 分类; 结构; 人类疾病

中图分类号: Q51 **文献标识码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.0253-2778.2018.10.012

引用格式: 侯文韬, 王亮, 徐达, 等. ABC 转运蛋白与人类疾病[J]. 中国科学技术大学学报, 2018, 48(10):853-861.
HOU Wentao, WANG Liang, XU Da, et al. ABC transporters and human diseases[J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2018, 48(10):853-861.

特
约
评
述

ABC transporters and human diseases

HOU Wentao, WANG Liang, XU Da, CHEN Yuxing, ZHOU Congzhao

(School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

Abstract: Adenosine triphosphate(ATP) binding cassette transporters, known as ABC transporters, is a kind of active transporters which can be found in all kingdoms of life. It normally consists of four domains: two transmembrane domains (TMD) and two nucleotide-binding domains (NBD). NBDs hydrolyzes ATPs, and the produced energy can be used by TMDs to transport substrates across the membrane against the chemical potential. ABC transporters anticipate in a variety of physiological process, because almost all functional molecules can be recognized as substrates by ABC transporters. The human genome encodes 48 ABC transporters in total, and dysfunction of the transporters is directly related to some major diseases.

收稿日期: 2018-08-03; **修回日期:** 2018-09-05

基金项目: 国家重大科学研究计划(2015CB910103), “科大新医学”联合基金资助.

作者简介: 侯文韬, 男, 1986 年生, 博士/副研究员. 研究方向: 疾病相关膜蛋白的结构功能研究. E-mail: todvince@mail.ustc.edu.cn

通讯作者: 周丛照, 教授, 博士生导师, 中国科学院“百人计划”入选者. 1987~1995 年就读于中国科学技术大学生物系并先后获学士和硕士学位; 1999~2000 年作为联合培养博士生在法国巴黎南大学 IGM 研究所学习, 2000 年获中国科学技术大学生命科学学院博士学位; 2000~2003 年在法国科研中心及巴黎南大学结构基因组学实验室作博士后研究. 2005~2018 年任全国生物化学与分子生物学学会常务理事, 2014 年起任安徽省生物化学与分子生物学学会理事长, 2015 年当选亚洲及大洋洲生物化学家与分子生物学家联盟(FAOBMB)中国代表. 2006~2010 年任科技部重大科学研究计划首席科学家, 2015 年起任科技部国家重点研发计划指南编写专家组成员, 2018 年起任科技部国家重点研发计划总体专家组成员. 主要从事病原微生物的重要膜蛋白的结构功能研究和蓝藻水华的形成机制及其干预策略的研究. E-mail: zcz@ustc.edu.cn



This essay summarized the classification and features of human ABCs, and emphasized the latest research progress of structure studies of human ABC transporters, as well as their relations with human diseases.

Key words: ABC transporter; classification; structure; human disease

0 引言

细胞膜作为细胞质与胞外微环境的屏障,必须具有选择通透性,否则就无法保持整个细胞内环境的稳态.细胞膜上结合的蛋白提供了这种选择通透性.其中,离子通道以及协助扩散转运蛋白(facilitators)可以使得溶质顺着电势梯度进行跨膜运输.这种运输过程不需要能量,因此也被称作被动运输.反之,主动运输可以使得溶质逆浓度梯度运输并富集,这一过程需要消耗能量.生物体在长期演变过程中进化出一系列主动运输模式,适用于不同物质的运输,以满足多种多样的生理需求.其中 ABC 转运蛋白是数目最多、多样性最高的转运蛋白超家族.ABC 转运蛋白全称 ATP 结合盒(ATP binding cassette)蛋白,该家族转运蛋白对底物进行跨膜运输的能量来自 ATP 的水解.

不同物种编码的 ABC 转运蛋白的数量差别较大.一般来说,单细胞生物,如生活在复杂环境下的细菌,需要适应多变的外部条件,因而其 ABC 转运蛋白数量往往较多.在大肠杆菌 K12 菌株的基因组中,大约 5% 的基因编码 ABC 转运蛋白^[1].而对生长环境要求严格的细菌(例如哺乳动物的致病菌类),其编码的 ABC 转运蛋白则要少得多.真核生物往往具有更精细的物质跨膜运输机制,因而真核细胞的 ABC 转运蛋白相对较少.例如,真核细胞可以通过内吞作用摄取营养物质的细胞,就不需要编码具有这种功能的 ABC 转运蛋白.在很长一段时间里,人们一直认为真核动物不具有向内转运的 ABC 转运蛋白(importer).

大部分 ABC 转运蛋白是具有底物特异性的,但也有一些是多底物特异性的,例如寡肽转运蛋白可以转运几乎所有的二肽或是三肽^[2].还有一些 ABC 转运蛋白,例如细菌 LmrA 和人类 Pgp,可以转运非常广谱的疏水性底物.ABC 转运蛋白的另一个显著特点是,即便是序列和结构相似的同一个家族的 ABC 转运蛋白,它们的底物选择性也可能差别巨大.几乎所有具有生理功能的分子都是 ABC 转运蛋白的底物,这种底物多样性使得其参与广泛的生理过程.经典的 ABC 转运蛋白由四个结构域构成:两

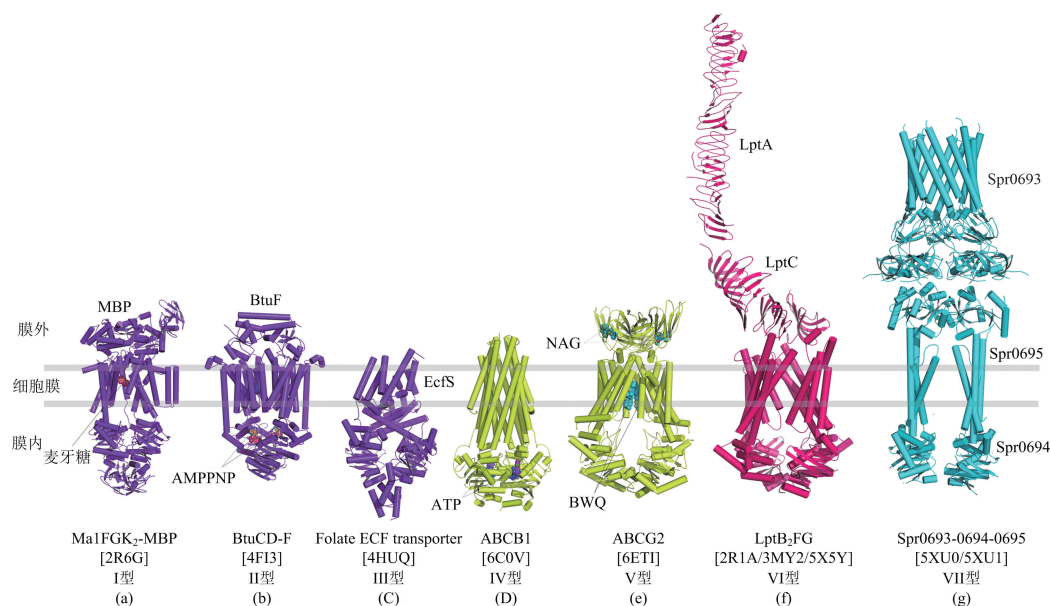
个跨膜结构域(transmembrane domain, TMD)和两个细胞质内的 ABC 结构域,也被称作核酸结合结构域(nucleotide-binding domain, NBD).TMD 通过多个疏水区域在细胞膜内形成包含底物结合位点的通道.不同 ABC 转运蛋白的 TMD 一级序列相似度较低,它决定了整个 ABC 转运蛋白的底物特异性.同时,也有很多 ABC 转运蛋白通过额外的结构域,例如底物结合结构域(substrate binding domain, SBD)来加强底物选择性.NBD 定位在胞内,其一级序列相对较为保守.NBD 的核心区大概由 215 个氨基酸组成,可以根据该区域一级序列的保守性对 ABC 转运蛋白进行分类^[5].NBD 具有一个所谓的 Walker A 和 Walker B 模体(motif),以及一个“ABC 特征模体”(ABC-signature motif).比如磷酸转运蛋白 ArsA 的 ATP 结合结构域只具有 Walker A 和 Walker B 模体,但是没有 ABC 特征模体,因此不是 ABC 转运蛋白.NBD 通过消耗 ATP 来改变蛋白的构象,起到了分子马达的作用.从生化、遗传以及结构的数据来看,NBD 和 TMD 是 ABC 转运蛋白的核心,在行使功能时是缺一不可的.当然,除了这两大结构域,对很多 ABC 转运蛋白来说,额外的结构域对于完成整体功能也是必不可少的,比如我们前面提到的 SBP.囊性纤维化蛋白(cystic fibrosis protein)CFTR 的 R 结构域可以通过自身的磷酸化来调节整个 CFTR 的活性.

尽管人们对 ABC 转运蛋白已经进行了一系列结构和功能的研究,但是我们对于其底物识别特异性的决定因素尚不明确,而仅仅通过氨基酸序列分析来预测其功能往往会导致错判.比如,人类的 Pgp 蛋白是多抗药性转运蛋白,而人类的 MDR3 尽管与其序列一致性高达 80%,却转运磷脂酰胆碱^[3].原核生物的 LmrA 蛋白与 Pgp 只有 40% 的序列一致性,却转运与 Pgp 类似的一系列疏水性药物^[4].同时,ABC 转运蛋白的分子机制,尤其是 ABC 向外转运蛋白的分子机制还不清楚.更重要的是,与人类重要疾病相关的 ABC 转运蛋白的结构和功能还知之甚少,所以我们迫切需要对它们的结构和功能及其与疾病的关系进行更加深入系统的研究,以期阐明其工作机制,并为人类相关疾病的治疗提供理论指导.

1 ABC 转运蛋白分类

将底物从细胞内转移到细胞外的 ABC 转运蛋白被称作向外转运蛋白 (exporters); 而底物的转运方向是从细胞外到细胞内 (相当于摄取) 的, 则被称作向内转运蛋白 (importers). 同时, 也存在一类 ABC 蛋白不行使转运功能, 而只是参与细胞的调控过程, 如 DNA 修复、翻译和基因表达调控等. 所以, 虽然 ABC 转运蛋白超家族由其初期发现的转运功能而得名, 但随着对其功能认识的加深, 更合适的称呼可能是“ABC 系统”. 最早人们试图通过 NBD 的保守模体, 基于计算机辅助方法对 ABC 转运蛋白进

行分类^[6]. 然而 TMD 更多地参与到底物的识别和结合, 因而这样的分类方式难免存在局限性. 随着越来越多的 ABC 转运蛋白的三维结构被解析, 通过综合分析序列和结构的相似度, 目前 ABC 转运蛋白被分为 7 种类型 (图 1), 并可以根据功能进一步细分^[7]. I 型~III 型是向内转运蛋白; IV 型和 V 型是向外转运蛋白; VI 型 ABC 蛋白被称为“抽提蛋白” (extractor), 抽提 (extract) 特指将已经固定在膜内侧的底物运输到膜外侧; VII 型是与其他蛋白共同形成一个完整的外排泵 (efflux pump) 系统, 在这一系统中, ABC 转运蛋白起着抽提脂蛋白的作用, 或者是与转运无关的调控细胞分裂的作用.



(a) 大肠杆菌麦芽糖向内转运蛋白 MalFGK₂ 的 X-射线晶体学结构, 是典型的 I 型 ABC 转运系统, 与麦芽糖结合蛋白 MBP 形成复合体. (b) 大肠杆菌维生素 B12 向内转运蛋白 BtuCD 的 X-射线晶体学结构, 是典型的 II 型 ABC 转运系统, 与底物结合蛋白 BtuF 形成复合体. (c) 短乳杆菌叶酸能量偶联因子向内转运蛋白的 X-射线晶体学结构, 是典型的 III 型 ABC 转运系统, 与叶酸结合蛋白 EcfS 形成复合体. (d) 人类多药外排蛋白 Pgp (ABCB1) 的电镜结构, 结合 ATP 的向内闭合状态. (e) 人类乳腺癌相关蛋白 BCRP/ABCG2 的电镜结构. (f) 绿脓杆菌脂多糖提取转运蛋白 LptB₂FG 的 X-射线晶体学结构. (g) 肺炎链球菌抗菌肽外排蛋白 Spr0693-0694-0695 的 X 射线晶体学结构. 蛋白数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 编码显示在方括号中. ATP, adenosine triphosphate; AMPPNP, adenylyl-imidodiphosphate.

图 1 ABC 转运蛋白分类

Fig.1 The classification of ABC transporters

I 型和 II 型的向内转运蛋白最初发现于细菌中, 其 TMD 具有 5~10 个跨膜螺旋, 分别以大肠杆菌的麦芽糖转运蛋白 MalFGK₂ (图 1(a)) 以及维生素 B12 转运蛋白 BtuCD 的结构 (图 1(b)) 为代表. III 型的向内转运蛋白以能量耦合因子转运蛋白 (energy-coupling factor, ECF) 为代表. 该蛋白能够帮助真菌从周围环境中摄取营养物质. 同时, 此类蛋白也在古细菌和植物中也被发现. 短乳杆菌 (*Lactobacillus brevis*) 的叶酸转运蛋白的三维结构

(图 1(c)) 表明 ECF 系统不是经典的两个 TMD 组成的跨膜区的结构, 而是由一个跨膜原件 (EcfT) 和一个埋植到膜内的底物结合蛋白 (EcfS) 组成.

IV 型和 V 型都可以看作是经典的 ABC 向外转运蛋白系统. 而 VI 型是以 LptB₂FG 为代表的抽提蛋白 (图 1f), 它转运革兰氏阴性菌外膜的脂多糖. 大肠杆菌的脂多糖在内膜上成熟后, 需要被 LptB₂FG 从内膜上抽提下来, 传递给与其有协同作用的 LptC, LptC 再将脂多糖运输给 LptA 以完成周质腔

内的转运,使得脂多糖最终抵达外膜.在这样一个 ABC 系统中,LptB₂是一对 NBD,LptF 和 LptG 分别组成 TMD.作为 VI 型 ABC 抽提蛋白,LptF 和 LptG 的折叠方式与其他类的 ABC 转运蛋白不同,不存在经典结构中 TMD 之间的螺旋交换(helix swapping)^[8].LptB 结合 ATP 后在侧面打开通道,使得脂多糖的脂质 A 部分进入,于是脂多糖就可能藉由 ATP 水解驱动的构象变化进入到周质腔中.

VII 型 ABC 蛋白是作为外排泵的一个组分发挥作用的.在革兰氏阴性菌如大肠杆菌中,内膜上的 ABC 转运蛋白 MacB 与周质腔中的 MacA 六聚体相互结合,而 MacA 又与插入外膜的 TolC 三聚体相互作用,三个蛋白共同形成一个双接头的外排泵.这样一个外排泵可以将底物从细胞内经由内膜一周质腔—外膜运输到细胞外^[9].虽然革兰氏阳性菌只具有一层细胞膜,但是类似的外排泵系统也是存在

的.在肺炎链球菌中,Spr0694-0695 是 ABC 转运蛋白,而 Spr0693 则是一个与 MacA 非常类似的六聚体管道^[10].这两种外排泵的结构都得到了解析,使得我们对 VII 型 ABC 蛋白有了更深刻的认识(图 1(g)).这一类 ABC 每一个 TMD 只有 4 股跨膜螺旋,TMD 都形成了一个紧密的二体结构,没有给底物的结合和进入留下空间;但是在外膜的边界处,TMD 具有特有的周质腔结构域(periplasmic domain)或胞外结构域(extracellular domain)形成了底物通道,使得底物从膜的侧面进入通道被转运.

人类基因组一共编码 48 个不同的 ABC 转运蛋白(表 1),根据一级序列的相似性分成 7 个亚家族,依次命名为 ABCA ~ ABCG^[11].其中,ABCE1 和 ABCF 蛋白不具有 TMD 结构,因此属于 ABC 蛋白中的非转运蛋白类.

表 1 人类基因组编码的 48 个 ABC 转运蛋白

Tab.1 The 48 ABC transporters encoded by the human genome

亚家族	蛋白名	残基数	高表达器官或组织	功能
ABCA	ABCA1	2261	肾上腺,脂肪	外排胆固醇呈递给高密度脂蛋白
	ABCA2	2436	脑,甲状腺	脂质代谢
	ABCA3	1704	肺,脑	脂质代谢
	ABCA4	2273	肾,小肠	磷脂酰乙醇胺(PE)衍生物外排
	ABCA5	1642	皮肤,小肠	前列腺上皮内瘤(PIN)的诊断标志物
	ABCA6	1617	肝,膀胱	巨噬细胞脂质代谢
	ABCA7	2146	骨髓,脾脏	胆固醇外排
	ABCA8	1581	脂肪,卵巢	转运特定的亲脂性药物
	ABCA9	1624	卵巢,脂肪	可能在单核白细胞的分化和巨噬细胞的脂类代谢中起到作用
	ABCA10	1543	卵巢,脂肪	胆固醇-应答基因
	ABCA12	2595	皮肤,结肠	葡萄糖苷酰鞘氨醇类物质转运
	ABCA13	5058	骨髓,甲状腺	胰腺相关遗传病
	ABCB	ABCB1	1280	肾上腺,小肠
ABCB2		808	脾,阑尾	多肽转运
ABCB3		703	阑尾,淋巴结	多肽转运
ABCB4		1279	肝,肾上腺	磷脂酰胆碱转运
ABCB5		812	胆囊	黑素原生成
ABCB6		842	睾丸,卵巢	铁转运
ABCB7		753	十二指肠,心脏	Fe/S 簇转运
ABCB8		718	睾丸,子宫内膜	胞内多肽跨膜转运
ABCB9		766	睾丸,脑	定位于溶酶体,功能未知
ABCB10		738	骨髓,十二指肠	内膜蛋白水解后短肽的外排
ABCB11		1321	肝,睾丸	胆酸盐转运

续表 1

亚家族	蛋白名	残基数	高表达器官或组织	功能
	ABCC1	1531	睾丸, 食道	抗药性
	ABCC2	1545	肝, 小肠	核苷转运
	ABCC3	1527	肾上腺, 胃	核苷转运
	ABCC4	1325	前列腺, 膀胱	cAMP, PGE2 转运
	ABCC5	1437	胃, 脾	cGMP 转运
	ABCC6	1503	肝, 肾	磺酰脲类受体
ABCC	ABCC7	1480	胆囊, 结肠	阴离子通道
	ABCC8	1581	脑, 肾上腺	作为钾离子通道的亚基
	ABCC9	1549	脂肪, 肝	可能是钾离子通道的亚基
	ABCC10	1464	卵巢, 脾	抗药性
	ABCC11	1382	睾丸, 前列腺	乳腺癌相关抗药性
	ABCC12	1359	睾丸	抗药性
	ABCC13	325	小肠, 十二指肠	编码未知功能的多肽
	ABCD1	745	脂肪, 小肠	超长链脂肪酸转运
	ABCD2	740	脂肪, 脑	X-linked ALD 相关
ABCD	ABCD3	659	肝, 肾	参与脂肪酸或/和脂肪酰-辅酶向过氧化物酶体的转运
	ABCD4	606	小肠, 十二指肠	参与维生素 B12 从溶酶体向细胞质的外排
ABCE	ABCE1	599	阑尾, 淋巴结	寡核苷酸结合蛋白
	ABCF1	845	睾丸, 骨髓	自身免疫型胰腺炎相关
ABCF	ABCF2	634	睾丸, 脑	乳腺癌抗药性相关
	ABCF3	709	肾上腺, 睾丸	功能未知
	ABCG1	678	脾, 肾上腺	胆固醇转运
	ABCG2	655	小肠, 十二指肠	有毒物外排, 抗药性
ABCG	ABCG4	646	睾丸, 脑	功能未知
	ABCG5	651	十二指肠, 小肠	固醇转运
	ABCG8	673	小肠, 十二指肠	固醇转运

【注】数据来源: 美国国立生物技术信息中心 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>.

几乎所有的真核 ABC 转运蛋白都是向外转运蛋白, 除了视网膜上的向内转运蛋白 ABCA4, 起着氯离子通道作用的 CFTR/ABCC7, 以及作为磺酰脲类受体蛋白的 SUR1 (ABCC8) 和 SUR2 (ABCC9). 其中, ABCB, ABCC 以及 ABCD 都是典型的 IV 型 ABC 蛋白(图 1(d)), 每个 TMD 都是由 6 股跨膜螺旋组成, 其原核同源蛋白多抗药性蛋白 Sav1866 的三维结构已被解析^[12]. ABCA 和 ABCG 蛋白都属于 V 型 ABC 蛋白, 它们的 TMD 构型与其他亚家族有所不同. 已经解析的 ABCA1 和

ABCG5/ABCG8 的结构可以为我们清楚地展示其结构特征(图 1(e)).

2 人类 ABC 转运蛋白的功能与疾病

人类 ABC 转运蛋白的结构特征以及特异的胞外结构域使这些蛋白承担了多种多样的生理功能, 例如清除异源物质、营养摄取、抵抗外源物侵犯、抗原呈递和脂质运输以及干细胞形成等. 因而 ABC 转运蛋白的异常与许多人类疾病密切相关(图 2), 其结构和功能研究必将有助于理解相关疾病的发病机

理,从而为相关药物开发提供理论基础.

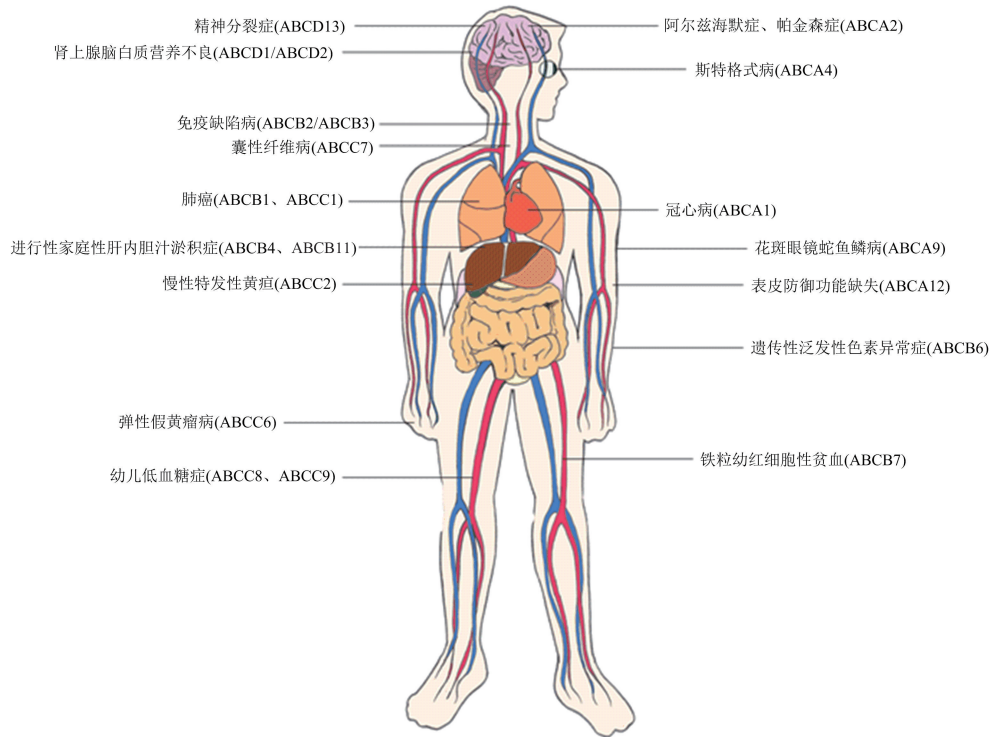


图 2 与人类 ABC 转运蛋白直接相关的疾病

Fig.2 Diseases related to human ABC transporters

2.1 ABCA 亚家族

ABCA 亚家族的蛋白普遍较大,有一半蛋白超过 2100 个氨基酸残基,其中 ABCA13 由 5058 个氨基酸残基构成,是目前已知最大的 ABC 转运蛋白. ABCA 的基因突变会导致严重的人类疾病,比如唐氏综合征 T1 (Tangier disease T1)、家族型高密度脂蛋白缺陷病 (familial high density lipoprotein deficiency)、斯特格式病 (Stargardt disease) 及色素性视网膜炎 (retinitis pigmentosa) 等.

迄今为止,ABCA 亚家族中 ABCA1 的结构已被解析^[13]. ABCA1 将细胞磷脂和胆固醇外排至细胞外受体载脂蛋白 A-1, 然后将其作为高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 的合成原料. 依据结构和生化信息, 该蛋白的底物运输很有可能也是采用侧面进入 (lateral access) 的方式. ABCA2 在大脑中有大量的表达, 在心脏、肾脏和肺中的表达量相对较低. ABCA2 的 mRNA 会由于巨噬细胞携带胆固醇而上调, 而神经母细胞瘤中的 ABCA2 过表达则会降低细胞中的胆固醇水平, 说明 ABCA2 具有往细胞外运输胆固醇的作用^[14]. 有研究表明, 细胞内的胆固醇水平过高会促进 β 淀粉样蛋白向胞外释放, 并在胞外累积, 而这是诱发阿尔兹海默症的主

要原因^[15]. 也有报道指出, ABCA2 的过表达会引发淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein) 的过表达. 同时, 一系列的突变和临床研究都显示, ABCA2 与阿尔兹海默症有密切关联^[16-17]. 在眼睛的光传导过程中, 光受体色素视紫红质受到光的激活, 11-顺式-视黄醛转化为全反式视黄醛. 这一反应的副产物被称为 N-视黄基-磷脂酰乙醇胺 (N-retinylidene-phosphatidylethanolamine, NRPE). ABCA4 的主要功能是将 NPPE 从视杆细胞外节的感光性圆盘膜转运至细胞质, 之后全反式视黄醛会被降解为维生素 A, 随后维生素 A 会被转运至视网膜色素上皮细胞, 转化成 11-顺式-视黄醛, 完成相互转换的光传导循环 (photo transduction cycle). ABCA4 的突变是常见的常染色体隐性遗传的斯特格式病变的原因. 病人由于视网膜色素上皮细胞中脂褐质的累积, 引发视网膜的多重退化, 失去视觉在黑暗环境中的快速适应能力^[18]. ABCA6 主要定位于肝脏、肺、心脏和大脑组织细胞中. ABCA6 被认为参与了细胞内脂质的转运^[19]. ABCA6 和 ABCA9, ABCA10 被认为都是胆固醇应答基因, 且在巨噬细胞分化的过程中表达水平明显上调. 然而有关 ABCA6 进一步的表达调控、亚细胞定位和生理功

能研究尚未有报道。ABCA8 在成年人的脑组织的寡树突胶质细胞富集的脑白质区域大量表达。有研究发现 ABCA8 可以显著地提高鞘磷脂合酶 1 和鞘磷脂的含量。脑前额叶皮质中的 ABCA8 的表达与和年龄相关的髓鞘形成有着显著的关联, ABCA8 的表达上调可以导致髓鞘形成基因 p25 α 的表达水平提高。所以, 研究者认为 ABCA8 可调控寡树突胶质细胞中的脂类代谢, 且对髓鞘质的合成和维持有着重要作用^[20]。ABCA9 最初是从人类巨噬细胞中被鉴定出来的, 由于 ABCA5, ABCA9, ABCA8, ABCA10 以及 ABCA6 之间的序列一致性非常高(大于 60%), 故也有人将它们统一称为 ABCA6 类转运蛋白(ABCA6-like transporter)。ABCA9 的 mRNA 在各个组织中都能被检测到, 但在心脏、大脑和新生儿组织中高量表达。ABCA9 被认为参与单核细胞向巨噬细胞的分化以及巨噬细胞内脂质平衡的维持^[21]。花斑眼镜蛇鱼鳞病作为目前已知最为致命的一种先天性鱼鳞病, 是由于表皮的角质细胞中板层小体畸形导致脂类转运、蛋白磷酸酶活性受阻而发生的。患有这种鱼鳞皮肤病的新生儿往往极易受感染, 并表现出皮肤脱水和体温失调等症状。这类疾病的患者往往携带有 ABCA12 的突变。ABCA12 主要定位于角质层的上表皮细胞中板层小体上, 参与角质细胞中葡糖苷酰鞘氨醇类物质的转运, 该转运的异常与表皮防御功能的缺失有关^[22]。

2.2 ABCB 亚家族

人源的 ABCB 亚家族成员主要由药物外排相关蛋白 MDR(multidrug resistance)以及抗原肽相关转运蛋白 TAP(transporter associated with antigen processing)组成。其中最为著名的是 ABCB1, 其在癌细胞中过表达使细胞具有广谱的外排疏水性化合物的功能, 包括秋水仙素、阿霉素、长春花碱、紫杉醇等。该蛋白主要存在于动物的肝脏和血脑屏障处, 因此被认为有保护细胞外排有毒物质的能力。胆汁盐、磷脂类物质以及其他一些胆汁中的化合物的分泌对于胆汁的正常功能, 包括胆固醇和其他甾醇类的分泌以及脂肪类维生素的吸收, 具有重要的作用。ABCB 亚家族中的 ABCB4 和 ABCB11 都定位于肝脏中, 分别参与磷脂酰胆碱和胆盐的分泌。ABCB4 和 ABCB11 的基因突变会导致进行性家族性肝内胆汁淤积症。这是一类常染色体隐性疾病, 以早发型的胆汁淤积症和肝损伤为特点, 患者以儿童为主, 患病期间伴随着肝损伤、肝硬化, 以至最终

肝功能衰竭, 通常需要进行肝移植得以存活^[23]。

ABCB 亚家族中的成员除了定位于细胞质膜上, 还有部分定位于线粒体膜上, 包括 ABCB6, ABCB7, ABCB8, ABCB10; 而 ABCB9 则定位于溶酶体膜上^[24]。这些不同定位的转运蛋白的精细功能尚不明确, 有待进一步深入研究。目前已有报道 ABCB7 基因定位于 X 染色体上, 该基因的突变会导致铁幼粒细胞贫血症, 并产生共济失调的表型。ABCB8 和亚铁血红素的转运相关。

2.3 ABCC 亚家族

ABCC 亚家族共包含 12 个 ABC 转运蛋白。除了转运离子的通道蛋白 ABCC7 以及协助离子转运的 ABCC8 和 ABCC9, 更多的是外排有毒物质的多药外排蛋白。其中 ABCC7 也叫囊性纤维化跨膜传导调节蛋白(CFTR), 该蛋白基因的突变带来的功能缺陷会导致囊性纤维化^[25]。囊性纤维化是一种遗传性外分泌疾病, 会影响人体的呼吸系统, 症状主要为反复支气管感染和气道阻塞。新生儿出生后不久即有症状发生, 早期有轻度咳嗽, 伴有肺炎, 随后咳嗽剧烈, 产生的黏痰不易咳出导致呼吸急促。该病多见于白种人, 但在亚洲人和非洲人中也偶有报道。ABCC8 和 ABCC9 的功能丧失会导致新生儿的低血糖^[26]。除此以外, ABCC2 与慢性特发性黄疸(也称为 Dubin-Johnson 综合症)有关, ABCC6 和弹性假黄瘤^[27]相关。ABCB1, ABCC1 以及 ABCG2 与癌症发生和发展均有一定程度的相关性, 其中 ABCG2 也被称为乳腺癌相关蛋白(BCRP)。

2.4 ABCD 亚家族

迄今为止, 已经有 4 个蛋白被鉴定属于 ABC 转运蛋白 D 亚家族, 分别是肾上腺脑白质营养不良蛋白(adrenoleukodystrophy protein, ALDP/ABCD1), ALDP 相关蛋白(ALDRP/ABCD2), 70kDa 过氧化物酶体膜蛋白(PMP70/ABCD3)和 PMP70 相关蛋白(P70R/ABCD4)。其中 ABCD1-3 和 ABCD4 分别定位于过氧化物酶体和溶酶体膜上。ABCD1 和 ABCD2 参与长链脂肪酸和超长链脂肪酸及其辅酶 A 衍生物向过氧化物酶体内的转运, 且具有各自的底物特异性。而 ABCD3 则参与支链酰基辅酶 A 向过氧化物酶体内的转运。另一方面, ABCD4 被推测参与维生素 B12 从溶酶体向细胞质的转运。ABCD1-3 作为过氧化物酶体膜蛋白, 通常以同源二聚体形式发挥功能, 但也有报道称其也能以异源二聚体形式存在。

已经确定 ABCD1 的功能紊乱会导致组织内超长链脂肪酸的累积,最终造成伴 X 染色体的肾上腺脑白质营养不良,这是一种十分严重的神经退行性疾病。而 ABCD2 被认为在功能上对 ABCD1 存在冗余,在伴 X 染色体的肾上腺脑白质营养不良的细胞内过表达 ABCD2 可以缓解 β -氧化缺陷病的症状。过去几年间,陆续有报道称 ABCD3 和 ABCD4 分别与肝脾肿大和维生素 B12 缺陷病有关^[28]。ABCD4 于 1997 年通过基于 ABCD1 和 ABCD3 相关序列的表达库搜索被发现,起初被认为是一种过氧化物酶体膜蛋白^[29]。后续研究发现 ABCD4 并不存在于过氧化物酶体膜上,而是在内质网膜上。直到 2012 年,研究者发现 ABCD4 的突变会导致一种全新的先天性维生素 B12 代谢疾病。ABCD4 的功能紊乱会导致溶酶体内的维生素 B12 无法正常外排,而这一现象与另一种溶酶体膜蛋白 LMBD1 (lysosomal membrane binding protein 1) 的功能紊乱的结果一致^[30]。后续研究也发现,ABCD4 会通过 LMBD1 的相互作用来完成从内质网向溶酶体的转移。到目前为止,人们已经确认了 ABCD 亚家族中除 ABCD2 之外,任何一种蛋白的功能紊乱都会导致严重的人类疾病^[31]。

3 结论与展望

为了治疗因 ABC 蛋白异常所导致的人类疾病,科学家努力对其生化与结构特性进行研究。直到 2013 年,才有第一篇文献^[32]报道了首个人类 ABC 转运蛋白的晶体结构。之后,由于冷冻电镜技术的飞速发展,人类 ABC 转运蛋白的结构生物学研究获得了爆发式进展。从 2017 年起,在短短的 16 个月内,就有 6 个 ABC 转运蛋白全长版本的结构被解析。其中,清华大学的颜宁研究组^[13]解析了 ABCA1 的结构,代表我国在人类 ABC 转运蛋白的结构研究领域也占有了一席之地。随着冷冻电镜技术的不断进步,人类 ABC 转运的研究必将为阐明其相关疾病的致病机理以及药物开发带来新的曙光。

参考文献(References)

- [1] LINTON K J, HIGGINS C F. The *Escherichia coli* ATP-binding cassette (ABC) proteins [J]. *Molecular Microbiology*, 1998, 28(1): 5-13.
- [2] TAME J R, MURSHUDOV G N, DODSON E J, et al. The structural basis of sequence-independent peptide binding by OppA protein [J]. *Science*, 1994, 264(5165): 1578-1581.
- [3] VANHELVOORT A, SMITH A J, SPRONG H, et al. MDR1 P-glycoprotein is a lipid translocase of broad specificity, while MDR3 P-glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine [J]. *Cell*, 1996, 87(3): 507-517.
- [4] VAN VEEN H W, CALLAGHAN R, SOCEANEANTU L, et al. A bacterial antibiotic-resistance gene that complements the human multidrug-resistance P-glycoprotein gene [J]. *Nature*, 1998, 391(6664): 291-295.
- [5] HIGGINS C F, HILES I D, WHALLEY K, et al. Nucleotide binding by membrane-components of bacterial periplasmic binding protein-dependent transport-systems [J]. *The EMBO Journal*, 1985, 4(4): 1033-1039.
- [6] HIGGINS C F, HILES I D, SALMOND G P C, et al. A family of related ATP-binding subunits coupled to many distinct biological processes in bacteria [J]. *Nature*, 1986, 323(6087): 448-450.
- [7] THOMAS C, TAMPE R. Multifaceted structures and mechanisms of ABC transport systems in health and disease [J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2018, 51:116-128.
- [8] LUO Q, YANG X, YU S, et al. Structural basis for lipopolysaccharide extraction by ABC transporter LptB₂FG [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2017, 24(5): 469-474.
- [9] FITZPATRICK A W P, LLABRES S, NEUBERGER A, et al. Structure of the MacAB-TolC ABC-type tripartite multidrug efflux pump [J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2:17070.
- [10] YANG H B, HOU W T, CHENG M T, et al. Structure of a MacAB-like efflux pump from *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Nature Communications*, 2018, 9:196.
- [11] DEAN M, ANNILO T. Evolution of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily in vertebrates [J]. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 2005, 6:123-142.
- [12] DAWSON R J P, LOCHER K P. Structure of a bacterial multidrug ABC transporter [J]. *Nature*, 2006, 443(7108): 180-185.
- [13] QIAN H, ZHAO X, CAO P, et al. Structure of the human lipid exporter ABCA1 [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1228-1239.
- [14] DAVIS W. The ATP-binding cassette transporter-2 (ABCA2) increases endogenous amyloid precursor protein expression and A β fragment generation [J]. *Current Alzheimer Research*, 2010, 7(7): 566-577.

- [15] DAVIS W. The ATP-binding cassette transporter-2 (ABCA2) regulates esterification of plasma membrane cholesterol by modulation of sphingolipid metabolism [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2014, 1841(1): 168-179.
- [16] CALPE-BERDIEL L, ZHAO Y, DE GRAAUW M, et al. Macrophage ABCA2 deletion modulates intracellular cholesterol deposition, affects macrophage apoptosis, and decreases early atherosclerosis in LDL receptor knockout mice [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 223(2): 332-341.
- [17] MACK J T, BELJANSKI V, TEW K D, et al. The ATP-binding cassette transporter ABCA2 as a mediator of intracellular trafficking [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2006, 60(9): 587-592.
- [18] LEE W, XIE Y, ZERNANT J, et al. Complex inheritance of ABCA4 disease: Four mutations in a family with multiple macular phenotypes [J]. *Human Genetics*, 2016, 135(1): 9-19.
- [19] KAMINSKI W E, WENZEL J J, PIEHLER A, et al. ABCA6, a novel subclass ABC transporter [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, 285(5): 1295-1301.
- [20] KIM W S, HSIAO J H, BHATIA S, et al. ABCA8 stimulates sphingomyelin production in oligodendrocytes [J]. *Biochemical Journal*, 2013, 452(3): 401-410.
- [21] PIEHLER A, KAMINSKI W E, WENZEL J J, et al. Molecular structure of a novel cholesterol-responsive A subclass ABC transporter, ABCA9 [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 295(2): 408-416.
- [22] AGGARWAL S, KAR A, BLAND P, et al. Novel ABCA12 mutations in harlequin ichthyosis: A journey from photo diagnosis to prenatal diagnosis [J]. *Gene*, 2015, 556(2): 254-256.
- [23] KUBITZ R, DROGE C, STINDT J, et al. The bile salt export pump (BSEP) in health and disease [J]. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2012, 36(6): 536-553.
- [24] DEAN M, HAMON Y, CHIMINI G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily [J]. *Journal of Lipid Research*, 2001, 42(7): 1007-1017.
- [25] ZHANG Z, CHEN J. Atomic structure of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator [J]. *Cell*, 2016, 167(6): 1586-1597.
- [26] BRYAN J, AGUILAR-BRYAN Z. Sulfonylurea receptors: ABC transporters that regulate ATP-sensitive K⁺ channels [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1999, 1461(2): 285-303.
- [27] RINGPFEIL F, LEBWOHL M G, CHRISTIANO A M, et al. Pseudoxanthoma elasticum; Mutations in the MRP6 gene encoding a transmembrane ATP-binding cassette (ABC) transporter [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(11): 6001-6006.
- [28] KAWAGUCHI K, MORITA M. ABC transporter subfamily D: Distinct differences in behavior between ABCD1-3 and ABCD4 in subcellular localization, function, and human disease [J]. *BioMed Research International*, 2016, 2016:6786245.
- [29] HOLZINGER A, KAMMERER S, ROSCHER A A. Primary structure of human PMP69, a putative peroxisomal ABC-transporter [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, 237(1): 152-157.
- [30] COELHO D, KIM J C, MIOUSSE I R, et al. Mutations in ABCD4 cause a new inborn error of vitamin B12 metabolism [J]. *Nature Genetics*, 2012, 44(10): 1152-1155.
- [31] KAWAGUCHI K, OKAMOTO T, MORITA M, et al. Translocation of the ABC transporter ABCD4 from the endoplasmic reticulum to lysosomes requires the escort protein LMBD1 [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 30183.
- [32] SHINTRE C A, PIKE A C W, LI Q, et al. Structures of ABCB10, a human ATP-binding cassette transporter in apo- and nucleotide-bound states [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(24): 9710-9715.