



钠尿肽受体的结构特征及信号转导机制

姜曰水, 陈蕴, 金坚*

江南大学医药学院, 无锡 214122

* 联系人, E-mail: jinjian31@126.com

收稿日期: 2012-12-27; 接受日期: 2013-03-11

国家自然科学基金(批准号: 81273437)和江南大学博士研究生科学研究基金(批准号: JUDCF10065)资助项目

doi: 10.1360/052012-450

摘要 钠尿肽是一组由心肌细胞等分泌的激素, 主要包括 ANP, BNP 和 CNP 等, 它们可通过自分泌或旁分泌作用于邻近的心肌细胞、血管平滑肌细胞等, 与靶细胞膜上特异的钠尿肽受体 NPR-A, NPR-B 和 NPR-C 结合, 启动一系列细胞内信号转导, 发挥其利尿、利钠、舒张血管、降低血压和调节电解质平衡等生理功能。目前, 钠尿肽药物已成为急性失代偿性心力衰竭阶段治疗药物研发的热点, 因此, 研究钠尿肽受体的结构、活性、信号通路及调控, 探析钠尿肽受体与钠尿肽功效之间的联系具有重要的理论意义和应用价值。

关键词

钠尿肽受体
鸟苷酸环化酶
环磷酸鸟苷
信号通路
活性调节

钠尿肽(natriuretic peptide system, NPs)是一组结构相似, 但起源不同的多肽家族, 其中, 心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)、脑钠尿肽(brain natriuretic peptide, BNP)为心脏循环激素, 两者作用相似, 均可通过提高肾小球的滤过率, 抑制肾小管对钠离子重吸收, 产生排钠利尿作用; 同时两者还可扩张血管, 抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)^[1]、交感神经系统(SNS)及血管升压素, 抗血管平滑肌细胞及内皮细胞的增殖^[2], 从而产生降压作用。C-型钠尿肽(C-type natriuretic peptide, CNP)在人体内作为内皮获得性自分泌、旁分泌调节因子, 除调节血管张力外^[3], 还参与调节成骨细胞的分裂和分化, 促进骨的形成等^[4]。NPs 的生理功能都是通过与其特异性钠尿肽受体(natriuretic peptide receptors, NPRs)的结合而实现的, 因此对 NPRs 的深入研究对推动 NPs 药物在医学研究和临床应用及新型 NPs 药物的开发方面有重要价值。本文就 NPRs 的类型、结构、活性调控及其信号通路等作一综述。

1 钠尿肽

对钠尿肽的研究始于 20 世纪 80 年代早期。de Bold 等人^[5]通过电子显微镜首先在心肌细胞分泌颗粒中发现利钠物质的存在。Flynn 等人^[6]从心房提取物中纯化并命名了 ANP, Sudoh 等人^[7]从猪的大脑中提取出 BNP, Sudoh 等人^[8]又发现 CNP, Schweitz 等人^[9]在绿色树眼镜蛇(*Dendroaspis angusticeps*)分泌的毒液中发现了 D-型钠尿肽(dendroaspis natriuretic peptide, DNP), 但迄今尚未在其他物种中发现 DNP。

NPs 结构包括 17 个氨基酸残基组成的环状结构域和 2 个游离末端(CNP 只有 N 端)。研究表明, NPs 的环状结构是其与相应受体结合而发挥舒张血管作用的重要活性中心, 而 2 个游离末端主要起排钠利尿作用^[10]。He 等人^[11]对 3 种天然 NPs 的空间构象进行比较, 发现 ANP 和 BNP 的空间构象相似, 主链 C α 的 RMSD 值为 0.4 Å, 侧链为 1.3 Å, 在垂直于细胞膜方向形成窄长的环区。CNP 的空间构象与两者差异较

引用格式: 姜曰水, 陈蕴, 金坚. 钠尿肽受体的结构特征及信号转导机制. 中国科学: 生命科学, 2013, 43: 368–375

Jiang Y S, Chen Y, Jin J. Structural features and signaling mechanisms of natriuretic peptide receptors. SCIENTIA SINICA Vitae, 2013, 43: 368–375, doi: 10.1360/052012-450

大, ANP 和 BNP 主链 C α 的 RMSD 值均为 1.7 Å, 侧链分别为 3.9 和 4.0 Å, 在垂直于细胞膜方向上形成较宽的环区. 推测该差异是 NPs 选择性结合 NPRs 的主要原因之一.

2 NPRs 的类型、组织分布及结合特性

NPs 成员通过与其高亲和力受体结合发挥它们的生物学活性, 迄今, 在哺乳动物中已鉴定了 3 类受体, A 型钠尿肽受体(NPR-A)、B 型钠尿肽受体(NPR-B)和 C 型钠尿肽受体(NPR-C). NPR-A 主要表达于大血管, 在肾上腺和肾中也有表达. NPR-B 在骨、脑、心脏、肾、肝、肺、子宫、成纤维细胞和血管平滑肌细胞中均有表达^[12], 主要在软骨组织和脑部, 尤其是脑下垂体表达. NPR-C 的表达最为广泛, 在心肌细胞、成纤维细胞、血管平滑肌细胞、心脏、肾上腺和肾脏等部位均有表达^[13], 以血管内皮细胞表达最多^[14]. 3 种 NPRs 对不同 NPs 成员的亲和力不同, NPR-A 选择性地结合 ANP 和 BNP^[15], 但与 ANP 的亲和力更高, 比与 BNP 的亲和力约高 10 倍, NPR-B 更倾向于结合 CNP, NPR-C 对配体要求不高, 可高亲和力结合 ANP, BNP, CNP 及其他具有同源结构的多肽, 与 3 种 NPs 的亲和力大小关系为 ANP $\geq$ CNP $\geq$ BNP.

除上述 3 类受体, 1995 年, Kashiwagi 等人^[16]还在鳗鱼中发现一类新型 NPRs, 被命名为 D 型利钠肽受体(NPR-D). NPR-D 为 NPR-C 的同源物, 在鳗鱼中两者的 cDNA 序列同源性达 70%. NPR-D 在鳗鱼脑中的分布最多, 可与鳗鱼和大鼠的 3 种 NPs 呈高亲和力结合, 该受体是否存在于哺乳动物中尚待研究.

3 NPRs 的结构

3.1 NPR-A, NPR-B 的结构

NPR-A 与 NPR-B 结构相似, 都包含胞外区(extracellular domain, ECD)、跨膜区(transmembrane domain, TMD)和胞内区(intracellular domain, ICD)^[17]. NPR-A, NPR-B 的 ECD 可与 NPs 特异性结合, 又称配体结合区(ligand binding domain, LBD). NPR-A 的 ECD 由 441 个氨基酸组成, 包含 3 个分子内二硫键 Cys60-Cys68, Cys164-Cys213 和 Cys423-Cys432, 5 个 N-糖基化位点. NPR-B 的 ECD 由 433 个氨基酸组成, 与 NPR-A ECD 氨基酸序列同源性为 30%, 包含 6 个

Cys 残基和 7 个 N-糖基化位点, N 端的 22 个氨基酸为信号肽^[18]. NPR-A 和 NPR-B ECD 的糖基化位点远离 NPs 结合区, 正确的糖基化对受体的功能是必需的, 其中任何一个糖基化位点缺失, 都会导致 NPR-A 的活性减弱或消失. Miyagi 等人^[19]研究发现, 糖基化对 NPR-A 翻译后折叠和转运是必需的, 但这些糖基化氨基酸残基本身并不参与它和 ANP 的结合. 在 NPR-A 和 NPR-B ECD 的远膜区有一个保守的氯离子结合位点, 可通过氢键与氯离子结合来调控受体的活性. NPR-A, NPR-B 的 ICD 包括一个鸟苷酸环化酶区(guanlyl cyclase domain, GCD)和一个激酶同源区(kinase homology domain, KHD), NPR-A 和 NPR-B ICD 的氨基酸序列同源性为 78%, KHD 的同源性为 62%, GCD 的同源性为 88%, Gly⁴⁹⁹-Xaa-Xaa-Xaa-Gly⁵⁰³ 为 NPR-B 与 NPR-A 所共有, 推测可能是 ATP 结合调节区的核心序列. GCD 活化后具有鸟苷酸环化酶活性, 可环化 GTP 产生 cGMP, KHD 无激酶活性, 主要起调节功能. NPR-A 的 ICD 由 568 个氨基酸组成, GCD 由胞内羧基端的 250 个氨基酸组成, 在近膜区有一个高度保守的结构模体, 被认为是 GC 受体信号转导模体, 对该模体进行单位点突变, 发现任何一个氨基酸残基的突变都会导致受体对配体的结合无反应或受体不依赖于配体的 GC 组成型激活. KHD 为胞内靠近跨膜区的 280 个氨基酸, 有 ATP 结合位点和多个磷酸化位点(S513, S518, S523, S526), 通过长约 50 个氨基酸残基的连接区与 GCD 的 N 端相连. 缺失突变表明, 该连接区对受体的二聚化和 GC 活性是必需的^[20], 这一区域在单体中形成双亲性螺旋, 在二聚体中形成卷曲螺旋结构. 然而, Saha 等人^[21]研究发现, 该区在鸟苷蛋白受体中不形成卷曲螺旋结构, 且对受体的二聚化也不是必需的, 因此, 该区的结构和功能尚需进一步研究. NPR-B 的 ICD 由 539 个氨基酸组成, 包含 9 个 Cys 残基和 1 个 N-糖基化位点, 其中 C 端的 252 个氨基酸组成 GCD, 近膜端的 317 个氨基酸组成 KHD. NPR-B 的这 2 个区域和 NPR-A 之间存在很大的相似性.

3.2 NPR-C 的结构

NPR-C 含有一个大的胞外区(ECD)、一个跨膜区(TMD)和一个仅由 37 个氨基酸残基构成的胞内区(ICD). NPR-C 的 ECD 有 4 个 N-糖基化位点, N 端的 18 个氨基酸为信号肽, 与 NPR-A, NPR-B ECD 的同

源性分别为 33% 和 30%; NPR-C 的 ICD 不具有鸟苷酸环化酶活性。

He 等人^[22]对 NPR-C 结合 CNP 前后的晶体结构进行研究, 发现 CNP 结合前 NPR-C 单体呈哑铃型, N 端和 C 端通过 3 个短肽相连, 构成约 120° 的铰合部, 铰合部在 2 个区域形成的裂缝为配体的结合位点。与 CNP 结合后, NPR-C 的 2 个单体分别位于 CNP 的前后方, 与结合 CNP 前相比, 两单体 C 端靠近了 20 Å, 进而导致 N 端和 C 端间的夹角打开约 13.5°。因此, 认为 NPR-C 存在开闭 2 种状态, 并且它的转变受 CNP 结合的调控。近年来, Ogawa 等人^[23]对 ANP, BNP 结合后 NPR-C 胞外部分的晶体结构进行研究, 发现与 CNP 的结合相似。

NPRs 的 ECD 区空间构象相似, 同源二聚体之间均形成 2 个大的识别口袋(Pocket I, Pocket II), NPR-A 的口袋浅长, 可方便地与 ANP, BNP 识别结合, 而无法与 CNP 结合, NPR-C 的口袋大而深, 认为是 NPR-C 具有广谱 NPs 识别性的主要因素^[11]。

4 NPRs 的表达和活性调控

NPRs 的表达和生物活性受多种因子的调节, 如生长因子、血管紧张素 II (Ang II)、内皮素、糖皮质激素和 NPs 等。在 3 类 NPRs 中, 对 NPR-A 基因转录水平的调控研究最多。Kumar 等人^[24]对人和鼠 NPR-A 基因的启动子进行研究发现: (i) 一个反向的 CCAAT 盒取代了传统的 TATA 盒; (ii) 人 NPR-A 基因的转录起始位点位于起始密码子上游 88 bp 处, 而鼠的则位于 5' 端非翻译区的 362~370 bp 处; (iii) 有多个可上调或下调其 mRNA 表达的元件, 3 个 Sp1 结合位点驱动转录活性, 其中任何一个位点突变会使启动子活性降低 50%, 若 3 个位点全部缺失将导致启动子活性下降 90%; (iv) 启动子中有一 cGMP 反应元件(cGMP-RE), 可通过与 cGMP 的结合下调 NPR-A 基因的表达, 实现 cGMP 的负反馈调控^[25]; (v) 鼠 NPR-A 基因的启动子包括一个 TA 重复, TA 的数量和 NPR-A 的表达水平呈反比。最近研究表明, NPR-A 的变位剪接产物可与野生型受体形成异源二聚体, 并影响它们与配体的结合和活化^[26]。

脱敏是在受体水平调节 NPs 作用的另一机制。同源脱敏发生在 NPs 结合后的瞬间, 这一过程不依赖于 cGMP 的积累。NPs 结合和受体活化后, 在蛋白

磷酸酶的作用下 NPR-A 和 NPR-B KHD 的磷酸化状态迅速减弱, 导致 GC 单体分离和 GC 活性减小。在 ANP 依赖的 NPR-A 的表达和活性调节中, ANP 的结合使 NPR-A 激活并环化 GTP 产生 cGMP, cGMP 通过结合 NPR-A 基因启动子的 cGMP-RE 使其表达下调。蛋白激酶 C (PKC) 参与由其他因子而不是 NPs 引起的异源脱敏。能导致 NPR-A 和 NPR-B 异源脱敏的因子有 Ang II、溶血磷脂酸(LPA)、血小板衍生生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)和内皮素(ET)等。这些因子可激活 PKC, 通过二酰甘油(DAG), 导致受体特异的磷酸丝氨酸和磷酸苏氨酸去磷酸化而脱敏^[27]。除 PKC 活化外, NPR-B 脱敏也可产生肌醇三磷酸(IP3)依赖细胞内 Ca^{2+} 浓度的升高^[28]。虽然 NPR-B 的拓扑结构和信号转导机制已研究得比较清楚, 但其基因调控已知尚少。NPR-B 基因启动子和 NPR-A 相似, 如缺少 TATA 盒, 存在反向 CCAAT 盒和几个 Sp1 结合位点等, 但 NPR-B 基因的启动子缺少 cGMP-RE, 表明 NPR-B 的反馈抑制和 NPR-A 不同, 不涉及相同的顺式作用元件, 或这种反馈抑制在 CNP/NPRB/cGMP 途径中不存在。

NPR-C 的表达水平可受多种物质调控。Sun 等人^[29]研究发现, 成纤维细胞生长因子会降低肺动脉平滑肌细胞中 NPR-C mRNA 的水平, 去甲肾上腺素、毛喉素、氟化钠和 8-溴 cAMP 也会降低血管平滑肌细胞中 NPR-C mRNA 和蛋白质水平, 但对 NPR-A 和 NPR-B 无影响^[30]。

5 NPRs 的信号通路

随着对 NPRs 结合 NPs 前后晶体结构的研究, NPs 与 NPRs 的结合、NPRs 构象的改变、激活及信号传递等越来越清晰。

5.1 NPR-A, NPR-B 的信号通路

腺苷酸环化酶(AC)的活化涉及 G 蛋白偶联受体的信号转导, $\text{Gs}\alpha$ 与 AC C1-C2 异源二聚体的 C2 亚单位结合导致 C1 亚单位沿轴旋转 7°, C1 和 C2 上的催化残基靠近形成催化活性位点。GCs 和已知的 ACs 同属于 III 类核苷酸环化酶家族, 两者序列高度同源^[31]。早在 10 多年前就报道了 ACs 的晶体结构^[32]; Winger 等人^[33]对与哺乳动物 GCs 同源的真核单细胞绿藻类 Cyt12 的 GC 催化中心进行研究; Rauch 等人^[34]对与

膜结合 GCs 相关联的原核藻青菌 Cya2 的 GC 催化中心进行研究, 发现它们之间存在相似的表达和调控方式, 且与 AC 催化区结构相似, 如 GCD 单体包含一个和 AC C2 亚单位中 Gs α 结合位点相似的沟. 因此, 推测 GCs 和 ACs 存在相似的活化机制, 即旋转机制.

NPs 结合前, NPR-A, NPR-B 处于单体和二聚体的动态平衡, NPs 的结合使受体趋向于二聚化^[35]. 有研究表明, ANP 的结合使 NPR-A 2 个单体的 ECD 发生 hh(head-head)方式聚合形成二聚体, 进而导致 2 个 ECD 的近膜区发生摩天轮式旋转, 各逆向转动 24°, 这种变化通过 TMD 传到胞内, 促进 ATP 与 KHD 的结合, 导致 KHD 的构象发生改变, 从而解除对 GCD 的抑制作用, 其中一个单体 GCD 的旋转使 2 个 GCD 相互靠近形成 2 个活性位点, GC 活性激活, 环化 GTP 生成 cGMP, 信号完成跨膜转导, 从而引发一系列事件.

cGMP 作为 NPR-A 和 NPR-B 的第二信使, 结合并激活一系列 cGMP 依赖的靶蛋白, 如蛋白激酶 GI(PKGI)、离子门控通道(GIC)和磷酸二酯酶(PDEs)等^[36], 从而介导 NPs 的各种生物学效应(图 1): (i) 排钠利尿: 在肾脏内髓集合管上皮细胞中, cGMP 可通过 PKG 抑制阿米洛利敏感性 Na⁺通道和水钠转运体, 进而抑制集合管细胞对 Na⁺的重吸收及近曲小管细胞对 Na⁺的转运^[37]; (ii) 血管平滑肌舒张: 主要信号途径为 NP-NPR-A/B-cGMP-PKGI. 一方面 PKGI 通过抑制 IP₃ 受体及激活细胞膜上的钙泵、肌质网钙泵和钾/钙通道等, 抑制胞内、肌质网储存 Ca²⁺的释放和外源 Ca²⁺内流, 使细胞内游离 Ca²⁺减少, 导致平滑肌松弛从而扩张血管; 另一方面, PKGI 还可促进肌球蛋白轻链磷酸酯酶(MLCP)磷酸化从而提高平滑肌细胞收缩的钙阈值, 最终引起血管平滑肌细胞松弛^[15,38,39]; (iii) 调节细胞生长: cGMP 通过激活 PKA, PKGI 等一系列蛋白激酶, 促进靶蛋白的丝氨酸/苏氨酸残基磷酸化, 从而激活蛋白激酶的信号级联反应, 最终可通过核转录因子、AP 转录因子等影响某些癌基因的表达, 抑制血管平滑肌细胞、纤维母细胞等的增殖; (iv) 抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS): ANP 能降低血浆肾素活力, 使 Ang II 水平下降, 改变肾血流动力学, 抑制醛固酮在肾脏近端小管的 Na⁺交换, 减少 Na⁺的重吸收^[40].

5.2 NPR-C 的信号通路

与 NPR-A 和 NPR-B 不同, NPR-C 属于非 GC 偶

联受体, 无 GC 和激酶活性, 对 cGMP 水平无直接影响. 最初认为 NPR-C 只作为清除受体, 即 NPR-C 以高亲和力与 ANP, BNP 和 CNP 结合形成 NPR-C-NPs 复合物, 然后通过胞吞内化进入溶酶体, NPs 在溶酶体中被水解清除, NPR-C 重新返回细胞表面. 随后研究发现, 除作为 NPs 系统中独一无二的清除受体外, NPR-C 还可参与信号转导过程^[41]. 与 NPs 结合后, NPR-C 偶联并激活抑制型 G 蛋白(Gi)异源三聚体, 活化的 Gi 蛋白可通过 α 亚基抑制细胞膜上的 AC 活性, 从而减少 cAMP 的生成, 或通过 $\beta\gamma$ 亚基激活细胞膜上的磷脂酶 C(PLC)^[42,43], 水解磷酸肌醇产生 DAG 和 IP₃, 其中 IP₃ 可与肌质网上的跨膜蛋白结合打开 Ca²⁺通道, 引起 Ca²⁺释放; DAG 激活 PKC, 通过受体门控的 Ca²⁺通道使 Ca²⁺进入细胞(图 2).

鼠心脏中 NPR-C 胞内区 37 个氨基酸的多克隆抗体能妨碍 ANP 依赖 AC 活性的抑制, 人工合成的 NPR-C 胞内区 37 个氨基酸能使 AC 活性下降 35%~45%, 其作用效果依赖于鸟苷酸, 并能被百日咳毒素(PT)拮抗. 同时, 抗原决定簇实验显示, NPR-C 胞质区存在 Gi 激活序列, 可直接活化 Gi^[44].

Pagano 和 Anand-Srivastava^[45]研究了 NPR-C 胞内区 37 个氨基酸残基序列特征, 发现其氨基酸序列为 ¹RKKYRITERRNHQEE SNIGKHERLREDSIRSH-FSVA³⁷, 其中 4 个区与胰岛素样生长因子受体中的相似, 人工合成 4 个区的短肽都能在鼠心脏和血管平滑肌细胞中抑制 AC 活性, 表明 NPR-C 胞内区 37 个氨基酸残基中包含激活 Gi 的功能序列. Zhou 和 Murthy^[46]证明, NPR-C 胞内区 37 氨基酸序列中部的 17 个氨基酸(R⁴⁶⁹~R⁴⁸⁵)是 Gi 蛋白激活的功能序列, 该序列可通过 Gi₁ 和 Gi₂ 抑制 AC 和活化 PLC. 同时, 通过突变发现, N 端 2 个精氨酸的替换(R469L 和 R470L)会消除对 PLC 的激活, 且能导致对 AC 的抑制性降低 30%; C 端单个碱性氨基酸(H481L, R482L, R485L)的突变也能消除对 PLC 的激活, 且 H481L 和 R482L 的突变会使对 AC 的抑制性分别下降 35%和 10%, R485L 的突变能使这种抑制彻底消除.

6 展望

2001 年 8 月, 美国食品药品监督管理局(FDA)批准了重组人脑钠肽(rhBNP)药物奈西立肽(Nesiritide)用于临床治疗 ADHF. 2005 年 10 月, 中国上市了同类产品

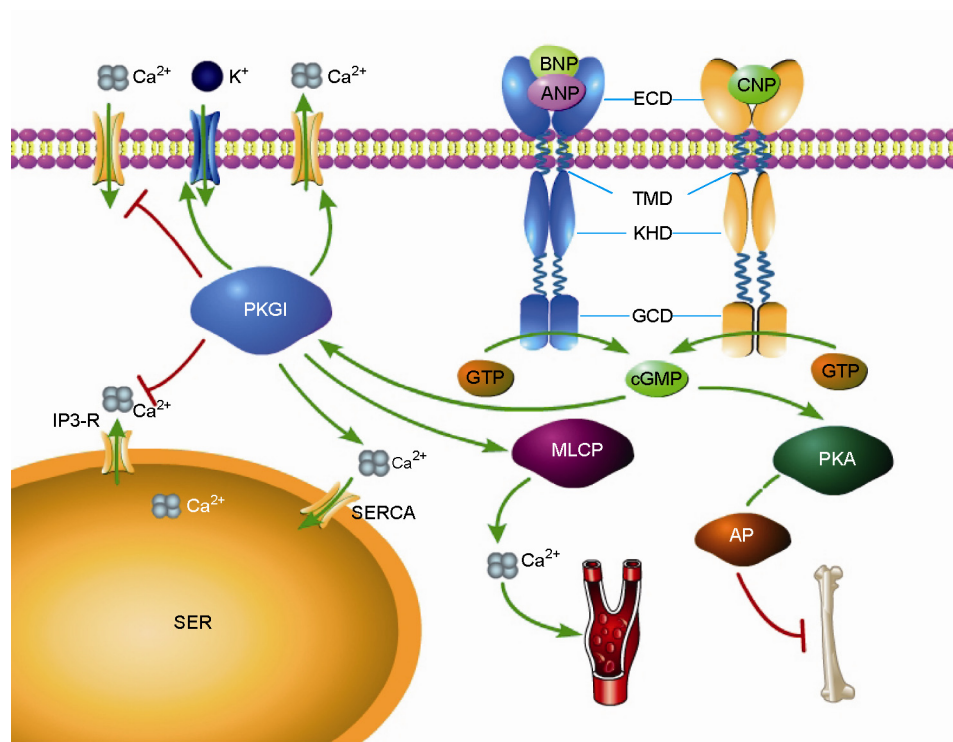


图 1 NPR-A, NPR-B 的信号通路

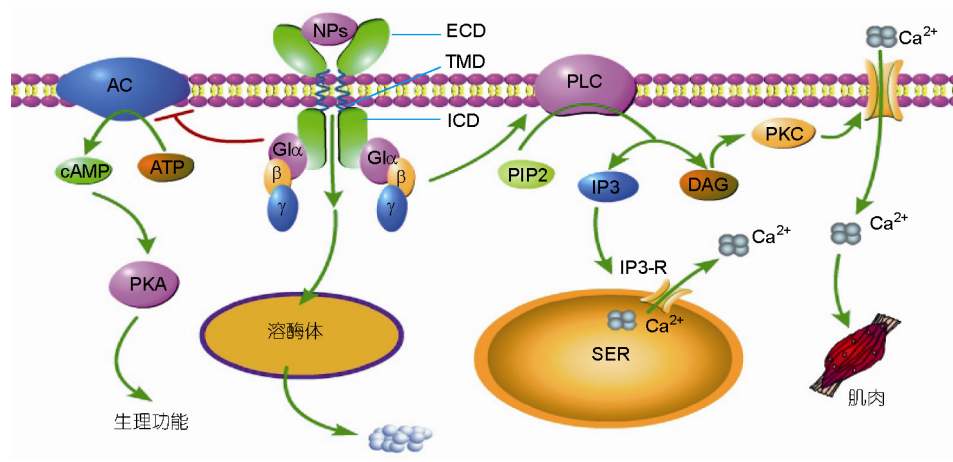


图 2 NPR-C 的信号通路

rhBNP(新活素). 近 10 年的临床应用评价^[47-49]发现: (i) rhBNP 类药物是一种有效的血管扩张剂, 但排钠利尿作用尚有疑问; (ii) 已上市的 rhBNP 及正在评价的其他 NPs 药品, 不同生产商和不同生产批次的药品治疗效果差异很大, 除价格因素外, 临床治疗效果和采样实验室药效学分析存在巨大差异, 严

重降低了临床医生的使用信心, 导致目前市场的严重萎缩; (iii) rhBNP 类药物像临床上已广泛使用的其他重组多肽/蛋白质药物一样, 存在着稳定性差、体内半衰期短、溶解度低等问题, 必须持续高剂量给药方能奏效. 因此, 有必要设计开发活性高、稳定性强的新型 NPs 药物^[50,51].

随着对 NPRs 的结构、功能及活性调控等方面研究的深入, 有研究者试图借助计算生物学技术, 通过改造天然 NPs 分子设计和筛选高效、安全、稳定的新型 NPs 药物^[52], 但由于对 NPRs 跨膜区域及胞内区域晶体结构的研究还不够彻底, NPRs 与 NPs 相互作用的机制尚存在争议, NPs-NPRs 信号通路中也还存在人们所未知的

调节因子等, 这些都为理想型 NPs 药物的设计和开发带来了障碍. 相信, 随着对 NPRs 的深入研究, 尤其是从 NPRs 复合物结构与功能的关系, 以及信号表达调控角度去理解 NPs 在体内的作用, 将有助于探索心血管疾病, 尤其是高血压和心力衰竭的病理生理机制, 为临床诊疗及新型 NP 药物分子的研发开辟新思路.

参考文献

- Garbers D L, Chrisman T D, Wiegand P, et al. Membrane guanylyl cyclase receptors: an update. *Endocrinol Metab*, 2006, 17: 251–258
- Pandey K N. Biology of natriuretic peptides and their receptor. *Peptides*, 2005, 26: 901–932
- Sabbatini M E, Rodriguez M R, Corbo N S, et al. C-type natriuretic peptide applied to the brain enhances exocrine pancreatic secretion through a vagal pathway. *Eur J Pharmacol*, 2005, 524: 67–74
- Kobayashi D, Yamaguchi N, Takahashi O, et al. Human atrial natriuretic peptide treatment for acute heart failure: a systematic review of efficacy and mortality. *Can J Cardiol*, 2012, 28: 102–109
- de Bold A J, Borenstein H B, Veress A T, et al. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci*, 1981, 28: 89–94
- Flynn T G, de Bold M L, de Bold A J. The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem Biophys Res Commun*, 1983, 117: 859–865
- Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, et al. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature*, 1988, 332: 78–81
- Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, et al. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 168: 863–870
- Schweitz H, Vigne P, Moinier D, et al. A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*). *J Biol Chem*, 1992, 267: 13928–13932
- Potter L R, Yoder A R, Flora D R, et al. Natriuretic peptides: their structures, receptor, physiologic functions and therapeutic applications. *Handb Exp Pharmacol*, 2009, 191: 341–366
- He X L, Dukkipati A, Garcia K C. Structural determinants of natriuretic peptide receptor specificity and degeneracy. *J Mol Biol*, 2006, 361: 698–714
- Dickey D M, Flora D R, Bryan P M, et al. Differential regulation of membrane guanylyl cyclases in congestive heart failure: natriuretic peptide receptor (NPR)-B, not NPR-A, is the predominant natriuretic peptide receptor in the failing heart. *Endocrinology*, 2007, 148: 3518–3522
- Anand-Srivastava M B. Natriuretic peptide receptor-C signaling and regulation. *Peptides*, 2005, 26: 1044–1059
- Rubattu S, Sciarretta S, Morriello A, et al. NPR-C: a component of the natriuretic peptide family with implications in human diseases. *J Mol Med*, 2010, 88: 889–897
- Potter L R, Abbey-Hosch S, Dickey D M. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev*, 2006, 27: 47–72
- Kashiwagi M, Katafuchi T, Kato A, et al. Cloning and properties of a novel natriuretic peptide receptor, NPR-D. *Eur J Biochem*, 1995, 233: 102–109
- Bartels C F, Bukomez H, Padayatti P, et al. Mutations in the transmembrane natriuretic peptide receptor NPR-B impair skeletal growth and cause acromesomelic dysplasia, type Maroteaux. *Am J Hum Genet*, 2004, 75: 27–34
- Ogawa H, Qiu Y, Ogata C M, et al. Crystal structure of hormone-bound atrial natriuretic peptide receptor extracellular domain: rotation mechanism for transmembrane signal transduction. *J Biol Chem*, 2004, 279: 28625–28631
- Miyagi M, Zhang X, Misono K S. Glycosylation sites in the atrial natriuretic peptide receptor: oligosaccharide structures are not required for hormone binding. *Eur J Biochem*, 2000, 267: 5758–5768
- Wilson E M, Chinkers M. Identification of sequences mediating guanylyl cyclase dimerization. *Biochemistry*, 1995, 34: 4696–4701
- Saha S, Biswas K H, Kondapalli C, et al. The linker region in receptor guanylyl cyclases is a key regulator module mutational analysis of guanylyl cyclase C. *J Biol Chem*, 2009, 284: 27135–27145
- He X L, Dar-chone C, Martick M M, et al. Allosteric activation of a spring-loaded natriuretic peptide receptor dimer by hormone. *Science*,

- 2001, 293: 1657–1662
- 23 Ogawa H, Qiu Y, Huang L. Structure of the atrial natriuretic peptide receptor extracellular domain in the unbound and hormone-bound states by single-particle electron microscopy. *FEBS J*, 2009, 276: 1347–1355
- 24 Kumar P, Arise K K, Pandey K N. Transcriptional regulation of guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A gene. *Peptides*, 2006, 27: 1762–1769
- 25 Hum D, Besnard S, Sanchez R, et al. Characterization of a cGMP-response element in the guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor A gene promoter. *Hypertension*, 2004, 43: 1270–1278
- 26 Hartmann M, Skryabin B V, Muller T, et al. Alternative splicing of the guanylyl cyclase-A receptor modulates atrial natriuretic peptide signaling. *J Biol Chem*, 2008, 283: 28313–28320
- 27 Potter L R, Hunter T. Activation of protein kinase C stimulates the dephosphorylation of natriuretic peptide receptor-B at a single serine residue: a possible mechanism of heterologous desensitization. *J Biol Chem*, 2000, 275: 31099–31106
- 28 Abbey S E, Potter L R. Vasopressin-dependent inhibition of the C-type natriuretic peptide receptor, NPR-B/GC-B, requires elevated intracellular calcium concentrations. *J Biol Chem*, 2002, 277: 42423–42430
- 29 Sun J Z, Oparil S, Lucchesi P, et al. Tyrosin kinase receptor activation inhibits NPR-C in lung arterial smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001, 281: L155–L163
- 30 Li Y, Madiraju P, Anand-Srivastava M B. Knockdown of natriuretic peptide receptor-A enhances receptor C expression and signalling in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res*, 2012, 93: 350–359
- 31 Linder J U, Schultz J E. The class III adenylyl cyclase: multi-purpose signaling modules. *Cell Signal*, 2003, 15: 1081–1089
- 32 Zhang G Y, Liu Y, Ruoho A E, et al. Structure of the adenylyl cyclase catalytic core. *Nature*, 1997, 386: 247–253
- 33 Winger J A, Derbyshire E R, Lamers M H, et al. The crystal structure of the catalytic domain of a eukaryotic guanylate cyclase. *BMC Struct Biol*, 2008, 8: 42
- 34 Rauch A, Leipelt M, Russwurm M, et al. Crystal structure of the guanylyl cyclase Cya2. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2008, 105: 15720–15725
- 35 Misono K S. Natriuretic peptide receptor: structure and signaling. *Mol Cell Biochem*, 2002, 230: 49–60
- 36 Beavo J A, Brunton L L. Cyclic nucleotide research-still expanding after half a century. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 3: 710–718
- 37 Wang T J, Larson M G, Levy D, et al. Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Circulation*, 2004, 109: 594–600
- 38 Airhart N, Yang Y F, Roberts C T, et al. Atrial natriuretic peptide induces natriuretic peptide receptor-Cgmp-dependent protein kinase interaction. *J Biol Chem*, 2003, 278: 38693–38698
- 39 Becker J R, Robinson T Y, Sachidanandan C, et al. *In vivo* natriuretic peptide reporter assay identifies chemical modifiers of hypertrophic cardiomyopathy signalling. *Cardiovasc Res*, 2012, 93: 463–470
- 40 Sata N, Tanaka Y, Suzuki S, et al. Effectiveness of angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin II receptor blocker on atrial natriuretic peptide. *Circ J*, 2003, 67: 1053–1058
- 41 Rose R A, Giles W R. Natriuretic peptide C receptor signalling in the heart and vasculature. *J Physiol*, 2008, 586: 353–366
- 42 Murthy K S, Makhoulouf G M. Identification of the G protein-activating domain of the natriuretic peptide clearance receptor (NPR-C). *J Biol Chem*, 1999, 274: 17587–17592
- 43 Barr A J, Ali H, Haribabu B, et al. Identification of a region at the N-terminus of phospholipase C-β3 that interacts with G protein βγ subunits. *Biochemistry*, 2000, 39: 1800–1806
- 44 Patel T B. Single transmembrane spanning heterotrimeric G protein-coupled receptor and their signaling cascades. *Pharmacol Rev*, 2004, 56: 371–385
- 45 Pagano M, Anand-Srivastava M B. Cytoplasmic domain of natriuretic peptide receptor C constitutes Gi activator sequences that inhibit adenylyl cyclase activity. *J Biol Chem*, 2001, 276: 22064–22070
- 46 Zhou H, Murthy K S. Identification of the G protein-activating sequence of the single-transmembrane natriuretic peptide receptor C (NPR-C). *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003, 284: C1255–C1261
- 47 Chen H H, Burnett J C. Therapeutic potential for existing and novel forms of natriuretic peptides. *Heart Fail Clin*, 2006, 2: 365–373
- 48 Topol E J. The lost decade of nesiritide. *N Engl J Med*, 2011, 365: 81–82
- 49 O'Connor C M, Starling R C, Hernandez A F, et al. Effect of nesiritide in patients with acute decompensated heart failure. *N Engl J Med*, 2011, 365: 32–43
- 50 Hunter I, Goetze J P. Next generation natriuretic peptide measurement. *Adv Clin Chem*, 2012, 58: 45–48
- 51 Ahmad T, Felker G M. Subcutaneous B-type natriuretic peptide for treatment of heart failure: a dying therapy reborn? *J Am Coll Cardiol*, 2012, 60: 2313–2315

- 52 Papaleo E, Russo L, Shaikh N. Molecular dynamics investigation of cyclic natriuretic peptides: dynamic properties reflect peptide activity. *J Mol Graph Model*, 2010, 28: 834–841

Structural Features and Signaling Mechanisms of Natriuretic Peptide Receptors

JIANG YueShui, CHEN Yun & JIN Jian

School of Pharmaceutical Science, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Natriuretic peptides (NPs), including ANP, BNP and CNP, are hormones secreted by cardiomyocytes and other cells. Binding with the specific natriuretic peptide receptors (NPRs), NPR-A, NPR-B and NPR-C which locate on the plasma membrane, NPs can initiate a series of cell signal transduction and have physiological functions of diuretic, natriuretic, diastolic blood vessels, reducing blood pressure, regulating the balance of electrolyte and other functions. The development of NP drugs is becoming a hot-spot on the treatment of the acute decompensated heart failure. Studies on NPRs structure, activity, signal transduction and their regulation, relationship of function and structure between NPRs and NPs, have important theoretical significance and application value.

natriuretic peptide receptor, guanylyl cyclase, cyclic guanosine monophosphate, signal pathway, activity regulation

doi: 10.1360/052012-450