

氨基酸转运载体SLC1A3的功能及对神经系统和线粒体功能的调节作用机制研究进展

丁婧^{1,3}, 何流琴^{1,2*}, 李铁军^{1,3*}, 印遇龙^{1,3}

1. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态过程重点实验室, 动物营养生理与代谢过程湖南省重点实验室, 长沙 410125;

2. 湖南师范大学生命科学学院, 动物肠道功能与调控湖南省重点实验室, 长沙 410081;

3. 中国科学院大学, 北京 100049

* 联系人, E-mail: heliuqin@hunnu.edu.cn; tjli@isa.ac.cn

2022-04-14 收稿, 2022-05-07 修回, 2022-05-09 接受, 2022-05-10 网络版发表

国家自然科学基金(31902168)、湖南省“湖湘青年英才”项目(2020RC3052)和湖南省重点研发项目(2022NK2023, 2020NK2059)资助

摘要 溶质载体家族1成员3(the solute carrier family 1 member 3 gene, SLC1A3)是一种重要的兴奋性氨基酸转运载体, 在动物各组织器官中均有表达, 主要负责细胞的酸性氨基酸转运, 对动物健康与生长发育具有重要作用. 目前关于SLC1A3的研究主要集中于对神经系统的调控以及表达异常造成的相关疾病, 而对SLC1A3在其他组织器官中的研究较少. 近期研究表明, SLC1A3可负责细胞内胞浆与线粒体之间的谷氨酸和天冬氨酸的转运, 以维持线粒体内三羧酸循环和电子传递链的正常运转, 促进细胞增殖, 恢复细胞功能. 本文主要综述了SLC1A3在动物各组织器官中的表达情况及其发挥的生物学功能, 并解析了其对于神经系统和线粒体功能的调控机制, 以期SLC1A3作为关键靶点为调控动物机体健康和疾病治疗提供理论依据.

关键词 SLC1A3, 氨基酸转运载体, 酸性氨基酸, 神经系统, 线粒体

溶质载体家族1成员3(the solute carrier family 1 member 3 gene, SLC1A3)是溶质载体家族1(solute carrier family 1, SLC1)成员之一, 负责编码兴奋性氨基酸转运载体1(excitatory amino acid transporter 1, EAAT1). EAAT1是一种Na⁺依赖性酸性氨基酸转运蛋白, 主要负责细胞膜内外天冬氨酸(aspartate, Asp)和谷氨酸(glutamate, Glu)的转运^[1~3], 对动物健康与生长发育具有重要的调节作用. 研究发现, SLC1A3在动物机体各个组织器官均有表达, 且在神经系统中表达量最高, 其通过转运神经递质Glu参与突触间隙兴奋的传导, 并通过摄取突触间隙的Glu, 有效维持细胞外Glu的低浓度, 以避免神经毒性效应对神经系统的损伤^[1].

也有研究表明, SLC1A3在外周组织表达量虽然相对不高但分布较广泛, 如心脏、肠道、皮肤、腺体、骨、脂肪细胞、上皮细胞、淋巴器官等, 表明SLC1A3不但参与对神经系统的调控, 对外周组织生长代谢等也有潜在的调节作用^[4~7]. 近期研究表明, SLC1A3可负责细胞内胞浆与线粒体之间的Glu和Asp的转运, 以维持线粒体内三羧酸循环(ticarboxylic acid cycle, TCA Cycle)和电子传递链(electron transport chain, ETC)的正常运转, 促进细胞增殖, 恢复细胞功能^[8~11]. 因此, 本文就SLC1A3在动物机体各组织器官中的表达分布情况及其发挥的生物学功能, 特别是对神经系统和线粒体功能的调控机制进行综述, 以

引用格式: 丁婧, 何流琴, 李铁军, 等. 氨基酸转运载体SLC1A3的功能及对神经系统和线粒体功能的调节作用机制研究进展. 科学通报, 2022, 67: 3005-3013

Ding J, He L Q, Li T J, et al. Research progress on the function of the amino acid transporter SLC1A3 and its regulation mechanism of action in the nervous system and mitochondria (in Chinese). Chin Sci Bull, 2022, 67: 3005-3013, doi: 10.1360/TB-2022-0421

期为SLC1A3参与维持动物机体健康的研究提供参考。

1 SLC1A3结构特点

SLC1A3属于真核生物高亲和力谷氨酸转运载体(EAATs,也称为兴奋性氨基酸转运载体)家族,由542个氨基酸组成^[1-3],负责编码EAAT1。EAAT1,又称谷氨酸/天冬氨酸转运体(glutamate/aspartate transporter, GLAST)(啮齿动物同系物),是一种三聚体跨膜蛋白,分为11个区域,其中疏水区TM1~7和TM11形成 α 螺旋结构, TM8形成凹环,位于TM9和TM10的位点与细胞胞外相通,且有研究认为TM7形成跨膜区域^[1,12]。研究表明,EAAT1可依赖钠钾泵介导酸性氨基酸Glu和Asp的转运,具体过程是EAAT1通过向细胞转运入3个Na⁺和1个H⁺,同时转运出1个K⁺,进而驱动Glu和Asp高达10⁴倍的逆浓度梯度转运^[12-15]。

2 SLC1A3在不同组织器官中的表达及功能

SLC1A3在动物神经系统中表达量最高,其可通过将突触间隙的Glu转运至胞内,维持细胞外Glu的低浓度,以避免兴奋性毒性效应对神经系统的损伤^[1]。同时SLC1A3在消化、循环、运动、内分泌和生殖系统等也有大量分布,表明SLC1A3不但参与对神经系统的调控,在维持线粒体功能、对机体进行营养调控、细胞增殖代谢和免疫等方面也发挥重要作用^[4-7]。

2.1 SLC1A3在神经系统中的表达和功能

SLC1A3主要分布在动物体中枢神经系统中,主要在星形胶质细胞中表达。作为神经递质Glu和Asp的转运载体,SLC1A3一方面参与突触间隙兴奋的传导,另一方面有转运Glu的功能。从突触前膜释放的Glu进入突触间隙发挥作用后,被神经胶质细胞和神经末梢膜上的SLC1A3重新摄取,以保持细胞外Glu浓度处于低水平,避免过量的Glu扩散到周围神经元引起神经系统的过度兴奋,对维持中枢神经系统的正常功能有重要作用^[1,6,10,16,17]。更详细的研究发现,SLC1A3的表达并不仅仅局限于中枢神经系统的星形胶质细胞中,例如,在耳蜗、小脑、少突胶质细胞、神经元、视网膜、味蕾、前庭器官以及脑室周围器官中均发现有SLC1A3的表达^[18-21]。

许多研究表明,SLC1A3的表达及功能异常与一些

神经系统疾病的发生有关。例如,位于SLC1A3的跨膜区和TM3结构域中心的序列发生错义突变,导致发作性共济失调^[3];包含SLC1A3基因的5号染色体p13.2带中发生大部分或完整SLC1A3基因重复可能是自闭症和多动症样行为的一个风险因素^[22];精神分裂症患者左右小脑蚓部分子层SLC1A3表达增加,可能导致Glu神经传递减少,从而导致疾病的发生^[23];而在星形胶质细胞瘤、少突胶质细胞瘤、成神经细胞瘤等癌细胞中发现,SLC1A3错误定位到细胞核中而不是质膜上,使细胞对Glu的摄取受损,对肿瘤生长和抵抗常规治疗中起关键作用^[24];胶质瘤癌细胞上SLC1A3的表达出现抑制,将导致细胞外Glu浓度升高,从而促进神经胶质细胞瘤的生长和侵袭^[20]。但也有研究发现,SLC1A3在胶质母细胞瘤细胞的质膜上高度表达,使Glu浓度升高,从而加快机体内肿瘤的侵袭和迁移^[25]。胶质母细胞瘤周围由实质小胶质细胞和向大脑募集的外周巨噬细胞组成的肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)增加了SLC1A3基因的表达,表明TAMs可能补偿胶质母细胞瘤细胞和星形胶质细胞对Glu摄取与谷氨酰胺转化的缺乏^[26]。SLC1A3在脉络丛肿瘤细胞中表达较强,而在非肿瘤脉络丛上皮细胞中表达罕见,是这种肿瘤类型的潜在标志^[27,28]。SLC1A3表达及功能异常与脑缺血的发生发展也密切相关,在缺血后SLC1A3在核心区和外周区的表达显著升高,随后在核心区迅速降低,这种升高可能是保护神经元免受进一步损伤的自我补偿机制,而随后迅速降低可能与神经元和星形胶质细胞的损伤有关^[16,29]。这说明SLC1A3表达与神经系统的正常功能运转有密不可分的联系,维持SLC1A3的正常表达是预防神经性疾病发生的重要一环。

2.2 SLC1A3在其他组织器官中的表达和功能

近年来,研究发现SLC1A3在心脏、肠道、皮肤、腺体、骨、脂肪细胞、上皮细胞、淋巴器官、乳腺等组织中广泛分布^[4-7]。SLC1A3可在心肌线粒体中表达,但表达量与大脑相比较低,SLC1A3定位于心肌线粒体内膜,通过转运Glu到线粒体,参与苹果酸/天冬氨酸穿梭(malate/aspartate shuttle, MAS),表明其在心肌Glu代谢中起作用^[4,9,30]。但当心脏急性缺血时,SLC1A3功能发生逆转,使心肌细胞Glu丢失,从而进一步加重缺血损伤^[30]。在乳腺中,SLC1A3在小管肺泡腺之间的结缔组织细胞中表达,在妊娠期、哺乳期和断奶后均为低水平表达,而哺乳期和断奶后SLC1A3表达进一步下降,

表明这些转运蛋白的表达不仅对乳腺的代谢需求有反应,而且取决于饮食中的蛋白质供应,可能还取决于怀孕和哺乳期间发生的特定激素变化^[6]。同时,乳腺中*SLC1A3*的表达还受到饮食的调节,禁食降低了*SLC1A3*的表达,在再次恢复饮食后表达水平恢复正常,表明*SLC1A3*可能是支持乳腺摄取乳蛋白合成所必需Glu和Asp的主要氨基酸转运载体^[31~33]。*SLC1A3*在脂肪细胞中也有表达,其定位于质膜中,是脂肪细胞摄取酸性氨基酸的主要调节因子^[6,13]。这说明*SLC1A3*在心脏、乳腺、脂肪细胞等多个组织部位均可转运机体氨基酸参与新陈代谢。

*SLC1A3*在肠上皮细胞系中表达,参与Glu转运,并且在肠细胞分化过程中表达上调,这种变化可能反映了*SLC1A3*为与分化相关的上皮细胞提供所需氨基酸^[5]。但也有研究发现,与脑相比,*SLC1A3*在肠道组织中的表达水平较低,没有达到显著水平^[34,35]。*SLC1A3*在舌、肾、膀胱、卵巢、前列腺和尿道的上皮中也有表达,其定位于质膜上,可能参与了上皮细胞层Glu的稳态^[6]。与脑相比,*SLC1A3*在肾和肝中的表达水平较低,没有达到显著水平^[6,34~37]。*SLC1A3*在皮肤表皮毛囊、毛囊间上皮和皮脂腺的干细胞和祖细胞中有表达,毛发休止期表达较低,生长期表达增加,表明*SLC1A3*在影响表皮细胞代谢和增殖方面发挥了积极作用^[7,38]。这主要是因为*SLC1A3*为增殖与分化相关的上皮细胞提供所需氨基酸,参与上皮细胞层Glu和Asp的稳态,从而影响上皮细胞的代谢与增殖分化。

同时,*SLC1A3*在骨中也有表达,定位于成骨细胞和骨细胞。Mason等人^[39]研究发现,*SLC1A3*对兴奋性氨基酸的转运作用可能与骨旁分泌细胞间通讯有关。He等人^[40]研究表明,*SLC1A3*在恶性骨肿瘤软组织肉瘤中过度表达,推测*SLC1A3*可能是软组织肉瘤发病机制和进展的重要标志物,可作为其预后的预测因子。Nielson等人^[41]研究发现,*SLC1A3*基因可能是与腰椎骨密度、椎骨骨折和人类骨表达相关的基因座中参与骨建模/重塑的基因。*SLC1A3*在胎盘、肺和骨骼肌中也可以检测到,表明其在这些组织的营养吸收中可能起调控作用^[4,37]。

此外,*SLC1A3*在淋巴器官如脾脏、淋巴结和胸腺中也有表达,其中一些*SLC1A3*阳性细胞具有树突形态,表明这些细胞是抗原提呈细胞^[6]。*SLC1A3*在胰腺、唾液腺、颌下腺、腮腺等腺体中均有表达^[6,35],说明*SLC1A3*的表达可能与机体免疫功能有关。

3 SLC1A3对神经系统和线粒体功能的调控机制

3.1 SLC1A3对神经系统的调节机制

星形胶质细胞参与离子转运、神经递质代谢、神经营养因子合成等生物活动,对维持大脑正常功能发挥关键作用,其快速有效摄取和代谢Glu的能力是正常兴奋性神经传递的组成部分^[17,42]。Glu作为中枢神经系统中主要的兴奋性神经递质,在脑内的浓度超过其他氨基酸浓度几倍,甚至10倍以上。正常情况下,从突触前膜释放的Glu进入突触间隙,通过与突触后受体相互作用介导正常的兴奋性突触传递,发挥作用后被神经胶质细胞和神经末梢膜上Glu转运蛋白(如EAAT1)重新摄取^[16,17,42]。在生理条件下,细胞外Glu浓度必须保持在很低的水平,以防止神经元损伤^[42]。如果突触间隙的Glu不能够被及时清除,则造成胞外Glu过量蓄积,过度兴奋位于突触后神经元上的谷氨酸受体,介导兴奋性毒性^[1]。

其中胶质细胞中的EAATs在终止谷氨酸能神经传递、维持细胞外液Glu浓度处于低水平方面发挥了重要的作用^[16]。EAATs主要表达于神经元和神经胶质细胞膜上,通过摄取突触间隙的Glu,有效维持细胞外Glu的低浓度,参与突触间隙兴奋的传导,避免兴奋性毒性效应对神经系统的损伤^[1]。现已发现了5种EAATs,人类EAAT1~EAAT5亚型分别对应啮齿动物直系同源物GLAST、GLT-1、EAAC1、EAAT4和EAAT5,这些亚型在中枢神经系统和细胞水平有差异表达,因此在谷氨酸能神经传递中发挥不同作用^[16,43]。特别是EAAT1和EAAT2分别在后脑与前脑中高度表达,是主要的兴奋性氨基酸转运蛋白,负责大脑中大部分Glu的摄取^[15,17]。这些转运蛋白的功能失调可能造成脑中细胞外Glu浓度升高,导致神经元功能障碍和由于Glu诱导的兴奋性毒性引起死亡。总之,星形胶质细胞摄取Glu能力受损与多种神经退行性疾病和癌症有关,包括缺血性中风、肌萎缩性侧索硬化、创伤性脑损伤和阿尔茨海默病和胶质细胞瘤等^[44]。

EAAT1调节神经递质传递的通路如图1所示。EAAT1由星形胶质细胞表达,通过转运Glu发挥作用,有助于维持细胞内外Glu水平,防止中枢神经系统Glu诱导的兴奋性毒性,EAAT1的表达减少及功能降低将诱导周围大脑物质的神经退化,为癌细胞的生存创造空间^[25]。有研究表明,在神经退行性疾病和癌症患者的

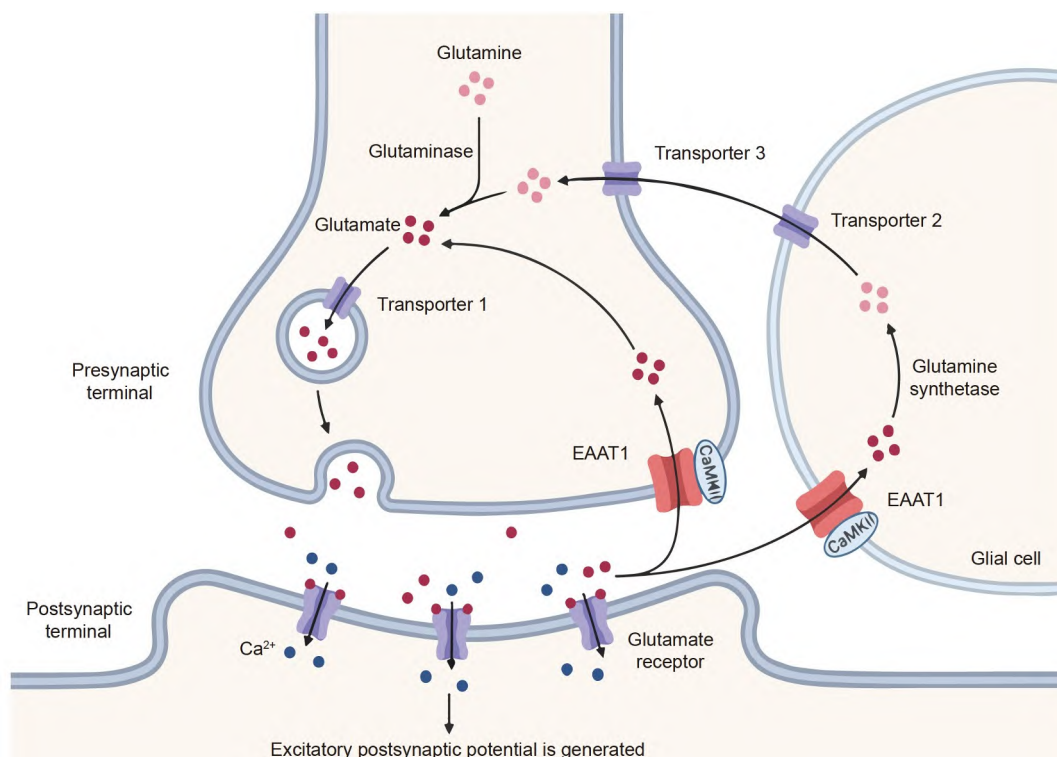


图1 EAAT1调节神经递质传递的通路
Figure 1 The pathway of EAAT1 regulates neurotransmitter transmission

神经细胞中 *SLC1A3* 表达下调、定位发生改变或者发生基因突变, 导致其转运进入细胞内的 Glu 减少, Glu 在胞外过度积累, 过度兴奋位于突触后神经元上的谷氨酸能受体, Glu 一方面通过激活 I 型代谢型谷氨酸受体和 N-甲基-D-天冬氨酸受体, 诱导细胞内游离 Ca^{2+} 水平的过度和长期增加, 导致细胞内 Ca^{2+} 超载, Ca^{2+} 激活一系列钙依赖性降解酶, 过度生成活性氧自由基和活性氮自由基, 造成线粒体功能障碍, 最终促使神经元死亡^[1,20,24,29,44,45]。Corbetta 等人^[25] 研究发现, GLAST 转运 Glu 依赖 Na^+/K^+ -ATP 酶的活性维持 Na^+ 电化学梯度, 在过表达 Na^+/K^+ -ATP 酶的癌细胞内 Glu 积累明显增多, 而用 GLAST 抑制剂 UCPH-101 抑制 GLAST 表达后, 细胞内 Glu 显著降低, 表明在病理条件下, 细胞中 Na^+/K^+ -ATP 酶的表达下调或缺失是触发 GLAST 功能逆转, 使细胞外 Glu 水平增加的原因, 而 Na^+/K^+ -ATP 酶在癌细胞中过表达可以恢复 GLAST 的生理功能。Chawla 等人^[17] 研究表明, EAAT1 在星形胶质细胞中受到钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (CaMK II) 的调控, EAAT1 是 CaMK II 的底物, EAAT1 的 N 端残基 Thr37 是 CaMK II 磷酸化位点, EAAT1 受 CaMK II 信号正调控, 抑制 CaMK II 信号会破

坏 EAAT1 对 Glu 转运, CaMK II 信号丢失可能是导致星形胶质细胞内 EAAT1 对 Glu 转运减少的原因之一。上述一系列的试验研究表明, EAAT1 在动物神经系统中发挥重要调控作用, EAAT1 在神经系统上的调控机制或许能为动物神经兴奋相关的疾病研究和治疗提供参考。

3.2 SLC1A3 在线粒体中的作用及其调控机制

谷氨酰胺是动物机体内参与氨运输和代谢的重要载体, 参与 TCA 循环, TCA 循环产生的 NADH 和 $FADH_2$ 携带 H^+ 进入 ETC, 为细胞的生长和繁殖提供能量^[10,46]。当机体处于氧化应激状态下, 对谷氨酰胺的需求量增加, 自身合成不能满足需要, 使线粒体内 TCA 循环和 ETC 受到抑制, 导致机体营养限制。有研究发现, 在 SLC1A3 蛋白表达水平较高的 MDA-MB-468、OV-CAR-4 和 IGROV1 细胞中, 在缺乏谷氨酰胺的情况下, 细胞增殖分化能力与 SLC1A3 的表达水平之间存在着很强的相关性。谷氨酰胺缺失可诱导 SLC1A3 在这些细胞系中的表达, 而在 SLC1A3 缺失细胞胞内 Asp 水平明显下降, 说明定位于胞质膜上的 SLC1A3 有助于细胞在谷氨酰胺饥饿条件下对胞外 Asp 的转运, 帮助癌细胞在

营养限制条件下生存^[10]。新近研究表明,在癌细胞中门冬酰胺酶刺激Asp和Glu的消耗,其通过*SLC1A3*的表达促进Asp和Glu的摄取,并恢复癌细胞增殖^[47]。在缺氧条件下,癌细胞ETC活性受到抑制,无法提供足够电子受体来支持Asp的合成,Asp是多种氨基酸以及核苷酸等代谢物合成的前体,Asp合成减少限制了细胞的增殖。细胞通过*SLC1A3*转载体作用来维持Asp水平,*SLC1A3*在细胞表面的高度表达使Asp摄取增加,在低氧水平下为癌细胞提供了竞争优势,减缓ETC抑制,有利于细胞的增殖^[2]。

Tajan等人^[10]研究发现,肿瘤抑制因子p53可诱导*SLC1A3*的表达,*SLC1A3*高表达的癌细胞对谷氨酰胺饥饿有抵抗力,能帮助癌细胞在营养限制条件下生存。而Reid等人^[48]研究表明,蛋白磷酸酶2A(PP2A)及其结合蛋白TAP42(哺乳动物为 $\alpha 4$)在谷氨酰胺感知通路中起着关键作用,在体内外低谷氨酰胺条件下对癌细胞生存和肿瘤生长至关重要。PP2A是一种主要的丝氨酸-苏氨酸蛋白磷酸酶,由催化C亚基、结构A亚基和调节B亚基组成,其中B亚基调节PP2A的活性、亚细胞定位和底物特异性。在PP2A的所有调节B亚基中,只有B亚基B55 α (基因名:*Ppp2r2a*)在谷氨酰胺饥饿时被特异性诱导,这是 $\alpha 4$ 介导的细胞生存所必需的。 $\alpha 4$ 与C亚基形成复合体,保护其不被蛋白酶体降解。由于B55 α 只有在与A和C亚基组装形成PP2A全酶才能稳定存在于细胞内,在谷氨酰胺饥饿时, $\alpha 4$ 通过提供C亚基,促进含有B55 α 调节亚基的PP2A复合物(A-B55 α -C)的组装,在维持B55 α 稳定性方面发挥了关键作用。同时,在谷氨酰胺耗竭的细胞中,谷氨酰胺的前体(细胞抗氧化剂谷胱甘肽)水平下降,使活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平随时间增加,谷氨酰胺/谷胱甘肽还原诱导的ROS积累特异性地促进了B55 α 的转录激活。PP2A复合物A-B55 α -C去磷酸化后抑制与B55 α 相互作用的蛋白EDD(EDD是一个含HECT结构域的E3泛素连接酶,已被证明通过阻断p53磷酸化负调控p53^[49,50]),B55 α 通过抑制EDD导致谷氨酰胺饥饿时p53激活,从而诱导*SLC1A3*表达。

细胞内90%以上的氧在线粒体内通过ETC进行氧化磷酸化提供能量,机体在缺血、缺氧的作用下氧化应激平衡失调,机体代谢通路发生改变,可明显抑制线粒体呼吸功能和氧化磷酸化过程,进而影响线粒体呼吸链复合物的活性、抗氧化酶的活性和自由基生成的变化,可导致机体能量摄入不足等,引起能量代谢障

碍^[51]。

MAS是位于真核细胞线粒体上的一个生物化学体系,由苹果酸脱氢酶、天冬氨酸氨基转移酶、苹果酸- α -酮戊二酸反向转运体和谷氨酸-天冬氨酸反向转运体组成。在细胞糖酵解的过程中产生的电子可通过MAS转运至线粒体内膜中进行氧化磷酸化反应。其中胞质中的Glu通过线粒体内钙结合天冬氨酸/谷氨酸载体(aspartate/glutamate carrier, AGC)蛋白转运到线粒体,同时将Asp从线粒体基质中导出到胞浆中,这对于维持胞浆糖酵解和线粒体ATP合成非常重要^[52]。其中,EAAT1在细胞内作为AGC蛋白的组成部分参与MAS^[9]。在线粒体上EAAT1转运酸性氨基酸的通路如图2所示,定位在线粒体内膜上的EAAT1负责胞浆与线粒体之间Glu和Asp的转运,在Glu饥饿、ETC抑制和缺氧缺血等生理异常情况下维持线粒体的功能,保持细胞活力,缓解代谢应激。研究发现,在过表达EAAT1的肌细胞中,苹果酸/天冬氨酸穿梭细胞的活性增加,说明EAAT1作为AGC蛋白的组成部分在MAS中发挥作用^[9]。

在心脏缺氧或缺血条件下,心肌细胞呼吸活动降低,使心肌线粒体Ca²⁺、Mg²⁺-ATPase活性降低,造成线粒体内Ca²⁺堆积,呼吸链主要酶复合物活性降低。线粒体Ca²⁺转运的改变,还可抑制用于能量合成的H⁺电化学梯度的利用,进而引起能量代谢障碍^[51]。Glu补充可通过多种代谢途径提供心脏保护,以防止缺氧和再灌注损伤,这些代谢途径依赖于Glu到线粒体的转运。EAAT1在心肌线粒体中表达,通过MAS转运Glu,保障心脏在缺氧或缺血状态下Glu的高摄取量,以维持电子受体和TCA循环的正常状态,促进心肌细胞的功能,提供心脏保护^[9]。

而在ETC抑制的条件下,细胞中电子受体供给不足,抑制Asp的从头合成,Asp是一种蛋白质生成氨基酸,也是嘌呤和嘧啶合成的前体,ETC功能障碍抑制了Asp的从头合成从而导致细胞增殖受损^[8]。而EAAT1作为MAS中AGC蛋白的组成部分,由于MAS是双向转运,Asp水平下降可能使MAS逆转,在胞浆中产生Asp,促进Asp的摄取,有助于核苷酸、氨基酸和蛋白质的合成,以支持抗氧化防御,挽救细胞活力^[8,10]。研究发现,Asp主要通过还原和氧化途径利用 α -酮戊二酸合成,并且两种Asp合成途径都需利用电子受体,虽然ETC主要是非增殖细胞中产生ATP的分解代谢过程,但在增殖细胞中,ETC通过提供电子受体来支持Asp的合成,从而发挥重要的合成代谢作用^[11]。故Asp摄取可在ETC抑制

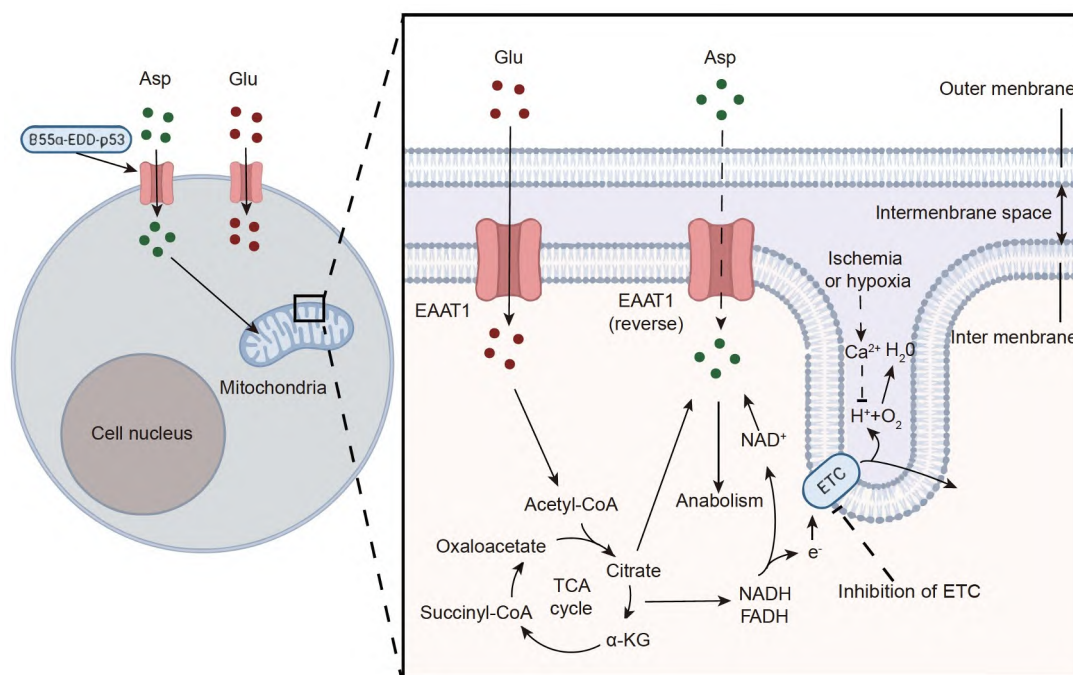


图2 在线粒体上EAAT1转运酸性氨基酸通路
Figure 2 The pathway of EAAT1 transports acidic amino acids on mitochondria

的情况下替代ETC电子受体的需求，以恢复线粒体功能。同时，EAAT1参与MAS逆转，转运Asp的同时也在线粒体内产生电子受体，能减缓ETC抑制产生的后果^[10]。

因此，EAAT1在维持线粒体功能方面具有重要作用，例如，在细胞谷氨酰胺饥饿的条件下，SLC1A3通过转运Asp帮助癌细胞在营养限制条件下生存；在缺氧或缺血状态下，SLC1A3通过转运Glu，保障心脏Glu的高摄取量，以维持电子受体和TCA循环的正常状态，促进心肌细胞的功能，为心脏提供保护；在ETC抑制的情况下，细胞中电子受体供给不足，抑制Asp的从头合成，SLC1A3通过转运Asp替代ETC电子受体的需求，恢复Asp的合成代谢等，有利于细胞的增殖。但目前关于动物体内EAAT1影响线粒体功能以及调控线粒体的作用机制尚不清楚，国内也鲜有相关的研究，仅有国外少部分团队有粗略的报道，无法为解决实际问题提供参考。因此，需要后期进一步地深入探索，以便为生产上预防和治疗动物线粒体功能障碍提供新思路。

4 总结与展望

近年来，SLC1A3(EAAT1)的研究主要集中在其作为兴奋性神经递质的转运载体调控中枢神经系统和线粒体功能以及相关疾病上，研究较为单一。而实际上

SLC1A3在动物机体各个系统与组织中均有表达，且具有重要的生物学功能，能作为一个重要调控位点对动物机体健康起到调节作用。其可作为酸性氨基酸的转运体为组织转运所需的氨基酸，参与尿素循环、TCA循环和MAS等，以供机体的正常运转和营养需求，在机体能量代谢、缓解氧化应激、机体免疫功能等方面发挥重要作用。

但目前关于SLC1A3与机体代谢关系及其调控机制尚不明确。例如，SLC1A3在不同组织和细胞中是如何影响氨基酸、蛋白质和糖类代谢，其发挥的具体作用？在不同生理或病理条件下，SLC1A3在不同组织器官中的表达分布规律和调控机理？功能营养素在动物不同生长发育阶段和不同环境中对SLC1A3功能的影响及其相关的作用机理？SLC1A3是否在神经元和神经胶质细胞的线粒体中有表达，其在线粒体中发挥的作用对神经系统是否有重要意义？关于这些的作用效果及机制还需进一步探讨和解析。总而言之，对于SLC1A3一类的酸性氨基酸转运载体作为调控靶点对相关疾病如神经性疾病和线粒体功能障碍等进行靶向调控或治疗将会成为未来重要研究方向，以期为SLC1A3参与维持动物机体健康、预防和治疗代谢综合征疾病等提供理论依据。

参考文献

- 1 Zhang Y L, Qu S G. Progress in the research of the structure and function of high-affinity glutamate transporters (in Chinese). *Prog Biochem Biophys*, 2014, 41: 1214–1221 [张云龙, 瞿少刚. 高亲和力谷氨酸转运体结构和功能的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2014, 41: 1214–1221]
- 2 Garcia-Bermudez J, Baudrier L, La K, et al. Aspartate is a limiting metabolite for cancer cell proliferation under hypoxia and in tumours. *Nat Cell Biol*, 2018, 20: 775–781
- 3 Iwama K, Iwata A, Shiina M, et al. A novel mutation in SLC1A3 causes episodic ataxia. *J Hum Genet*, 2018, 63: 207–211
- 4 Tanaka K. Expression cloning of a rat glutamate transporter. *Neurosci Res*, 1993, 16: 149–153
- 5 Mordrelle A, Jullian E, Costa C, et al. EAAT1 is involved in transport of L-glutamate during differentiation of the Caco-2 cell line. *Am J Physiol*, 2000, 279: G366–G373
- 6 Berger U V, Hediger M A. Distribution of the glutamate transporters GLT-1 (SLC1A2) and GLAST (SLC1A3) in peripheral organs. *Anat Embryol*, 2006, 211: 595–606
- 7 Reichenbach B, Classon J, Aida T, et al. Glutamate transporter Slc1a3 mediates inter-niche stem cell activation during skin growth. *EMBO J*, 2018, 37: e98280
- 8 Birsoy K, Wang T, Chen W W, et al. An essential role of the mitochondrial electron transport chain in cell proliferation is to enable aspartate synthesis. *Cell*, 2015, 162: 540–551
- 9 Ralphe J C, Segar J L, Schutte B C, et al. Localization and function of the brain excitatory amino acid transporter type 1 in cardiac mitochondria. *J Mol Cell Cardiol*, 2004, 37: 33–41
- 10 Tajan M, Hock A K, Blagih J, et al. A role for p53 in the adaptation to glutamine starvation through the expression of SLC1A3. *Cell Metab*, 2018, 28: 721–736.e6
- 11 Sullivan L B, Gui D Y, Hosios A M, et al. Supporting aspartate biosynthesis is an essential function of respiration in proliferating cells. *Cell*, 2015, 162: 552–563
- 12 Jiang J, Amara S G. New views of glutamate transporter structure and function: Advances and challenges. *Neuropharmacology*, 2011, 60: 172–181
- 13 Krycer J R, Fazakerley D J, Cater R J, et al. The amino acid transporter, SLC1A3, is plasma membrane-localised in adipocytes and its activity is insensitive to insulin. *FEBS Lett*, 2017, 591: 322–330
- 14 Leighton B H, Seal R P, Watts S D, et al. Structural rearrangements at the translocation pore of the human glutamate transporter, EAAT1. *J Biol Chem*, 2006, 281: 29788–29796
- 15 Canul-Tec J C, Assal R, Cirri E, et al. Structure and allosteric inhibition of excitatory amino acid transporter 1. *Nature*, 2017, 544: 446–451
- 16 Zhang M, Li W B, Wang Y H. Glial glutamate transporters and its change in brain ischemia and cerebral ischemic preconditioning (in Chinese). *Sci China Life Sci*, 2010, 22: 431–436 [张敏, 李文斌, 王彦华. 胶质细胞谷氨酸转运体及其在脑缺血和脑缺血预适应中的变化. *生命科学*, 2010, 22: 431–436]
- 17 Chawla A R, Johnson D E, Zyburka A S, et al. Constitutive regulation of the glutamate/aspartate transporter EAAT1 by calcium-calmodulin-dependent protein kinase II. *J Neurochem*, 2017, 140: 421–434
- 18 Li H S, Niedzielski A S, Beisel K W, et al. Identification of a glutamate/aspartate transporter in the rat cochlea. *Hear Res*, 1994, 78: 235–242
- 19 Furness D N, Lehre K P. Immunocytochemical localization of a high-affinity glutamate-aspartate transporter, GLAST, in the rat and guinea-pig cochlea. *Eur J Neurosci*, 1997, 9: 1961–1969
- 20 Freidman N, Chen I, Wu Q, et al. Amino acid transporters and exchangers from the SLC1A family: Structure, mechanism and roles in physiology and cancer. *Neurochem Res*, 2020, 45: 1268–1286
- 21 Abousoab A, Warsi J, Elvira B, et al. Caveolin-1 sensitivity of excitatory amino acid transporters EAAT1, EAAT2, EAAT3, and EAAT4. *J Membr Biol*, 2016, 249: 239–249
- 22 van Amen-Hellebrekers C J M, Jansen S, Pfundt R, et al. Duplications of SLC1A3: Associated with ADHD and autism. *Eur J Med Genet*, 2016, 59: 373–376
- 23 Wilmsdorff M V, Blaich C, Zink M, et al. Gene expression of glutamate transporters SLC1A1, SLC1A3 and SLC1A6 in the cerebellar subregions of elderly schizophrenia patients and effects of antipsychotic treatment. *World J Biol Psychiatry*, 2013, 14: 490–499
- 24 Varini K, Benzaria A, Taïeb N, et al. Mislocalization of the excitatory amino-acid transporters (EAATs) in human astrocytoma and non-astrocytoma cancer cells: Effect of the cell confluence. *J Biomed Sci*, 2012, 19: 10
- 25 Corbetta C, Di Ianni N, Bruzzone M G, et al. Altered function of the glutamate-aspartate transporter GLAST, a potential therapeutic target in glioblastoma. *Int J Cancer*, 2019, 144: 2539–2554

- 26 Choi J, Stradmann-Bellinghausen B, Yakubov E, et al. Glioblastoma cells induce differential glutamatergic gene expressions in human tumor-associated microglia/macrophages and monocyte-derived macrophages. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16: 1205–1213
- 27 Schittenhelm J, Roser F, Tatagiba M, et al. Diagnostic value of EAAT-1 and Kir7.1 for distinguishing endolymphatic Sac tumors from choroid plexus tumors. *Am J Clin Pathol*, 2012, 138: 85–89
- 28 Beschorner R, Pantazis G, Jeibmann A, et al. Expression of EAAT-1 distinguishes choroid plexus tumors from normal and reactive choroid plexus epithelium. *Acta Neuropathol*, 2009, 117: 667–675
- 29 Shen Y, Lu H, Xu R, et al. The expression of GLAST and GLT1 in a transient cerebral ischemia Mongolian gerbil model. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2020, 16: 789–800
- 30 Martinov V, Dehnes Y, Holmseth S, et al. A novel glutamate transporter blocker, LL-TBOA, attenuates ischaemic injury in the isolated, perfused rat heart despite low transporter levels. *Eur J Cardio-Thorac Surg*, 2014, 45: 710–716
- 31 Martínez-López I, García C, Barber T, et al. The L-glutamate transporters GLAST (EAAT1) and GLT-1 (EAAT2): Expression and regulation in rat lactating mammary gland. *Mol Membr Biol*, 1998, 15: 237–242
- 32 Alemán G, López A, Ordaz G, et al. Changes in messenger RNA abundance of amino acid transporters in rat mammary gland during pregnancy, lactation, and weaning. *Metabolism*, 2009, 58: 594–601
- 33 Shennan D B, Boyd C A R. The functional and molecular entities underlying amino acid and peptide transport by the mammary gland under different physiological and pathological conditions. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2014, 19: 19–33
- 34 Hu Q X, Ottestad-Hansen S, Holmseth S, et al. Expression of glutamate transporters in mouse liver, kidney, and intestine. *J Histochem Cytochem*, 2018, 66: 189–202
- 35 Howell J A, Matthews A D, Swanson K C, et al. Molecular identification of high-affinity glutamate transporters in sheep and cattle forestomach, intestine, liver, kidney, and pancreas. *J Anim Sci*, 2001, 79: 1329
- 36 Banday V S, Lejon K. Elevated systemic glutamic acid level in the non-obese diabetic mouse is *Idd* linked and induces beta cell apoptosis. *Immunology*, 2017, 150: 162–171
- 37 Nakayama T, Kawakami H, Tanaka K, et al. Expression of three glutamate transporter subtype mRNAs in human brain regions and peripheral tissues. *Mol Brain Res*, 1996, 36: 189–192
- 38 Roy E, Khosrotehrani K. Past stem cells and finally in transit: SLC1A3 instructs skin niche coupling. *EMBO J*, 2018, 37: e99393
- 39 Mason D J, Suva L J, Genever P G, et al. Mechanically regulated expression of a neural glutamate transporter in bone: A role for excitatory amino acids as osteotropic agents? *Bone*, 1997, 20: 199–205
- 40 He L, Shi X, Liu Z, et al. Roles of EAAT1, DHFR, and Fetuin-A in the pathogenesis, progression and prognosis of chondrosarcoma. *OncoTargets Ther*, 2019, 12: 8411–8420
- 41 Nielson C M, Liu C T, Smith A V, et al. Novel genetic variants associated with increased vertebral volumetric BMD, reduced vertebral fracture risk, and increased expression of *SLC1A3* and *EPHB2*. *J Bone Miner Res*, 2016, 31: 2085–2097
- 42 Baber Z, Haghghat N. Glutamine synthetase gene expression and glutamate transporters in C6-glioma cells. *Metab Brain Dis*, 2010, 25: 413–418
- 43 Abrahamsen B, Schneider N, Erichsen M N, et al. Allosteric modulation of an excitatory amino acid transporter: The subtype-selective inhibitor UCPH-101 exerts sustained inhibition of EAAT1 through an intramonomeric site in the trimerization domain. *J Neurosci*, 2013, 33: 1068–1087
- 44 Kalariti N, Pissimissis N, Koutsilieris M. The glutamatergic system outside the CNS and in cancer biology. *Expert Opin Investig Drugs*, 2005, 14: 1487–1496
- 45 Robert S M, Sontheimer H. Glutamate transporters in the biology of malignant gliomas. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71: 1839–1854
- 46 Liu J B, Xiong X M. Research progress on the role of glutamine in intestinal tract (in Chinese). *Pharm Clin Chin Mater Med*, 2019, 10: 60–62 [刘江碧, 熊小明. 谷氨酰胺在肠道中的作用研究进展. *中药与临床*, 2019, 10: 60–62]
- 47 Sun J, Nagel R, Zaal E A, et al. SLC1A3 contributes to L-asparaginase resistance in solid tumors. *EMBO J*, 2019, 38: e102147
- 48 Reid M A, Wang W I, Rosales K R, et al. The B55 α subunit of PP2A drives a p53-dependent metabolic adaptation to glutamine deprivation. *Mol Cell*, 2013, 50: 200–211
- 49 Smits V A J. Edd induces cell cycle arrest by increasing p53 levels. *Cell Cycle*, 2012, 11: 715–720
- 50 Ling S, Lin W C. EDD inhibits ATM-mediated phosphorylation of p53. *J Biol Chem*, 2011, 286: 14972–14982
- 51 Hou T D, Cao W J, Du H D, et al. The hypoxic effect on the activity of mitochondrial respiratory chain complex at rat gastrointestinal tissue (in Chinese). *J Northwest Normal Univ (Nat Sci)*, 2014, 50: 82–87 [侯天德, 曹旺杰, 杜海迪, 等. 低氧对大鼠胃肠组织线粒体呼吸链复合物的抑制效应. *西北师范大学学报(自然科学版)*, 2014, 50: 82–87]
- 52 Lopaschuk G D. Glutamate transport in the heart: Lessons learned from the brain. *J Mol Cell Cardiol*, 2004, 37: 5–6

Summary for “氨基酸转运载体SLC1A3的功能及对神经系统和线粒体功能的调节作用机制研究进展”

Research progress on the function of the amino acid transporter SLC1A3 and its regulation mechanism of action in the nervous system and mitochondria

Jing Ding^{1,3}, Liuqin He^{1,2*}, Tiejun Li^{1,3*} & Yulong Yin^{1,3}

¹ Hunan Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition Physiology and Metabolism Process, Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China;

² Hunan Province Key Laboratory of Animal Intestinal Function and Regulation, College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China;

³ University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

* Corresponding authors, E-mail: heliuqin@hunnu.edu.cn; tjli@isa.ac.cn

The solute carrier family 1 member 3 (*SLC1A3*) gene encodes for excitatory amino acid transporter 1 (EAAT1), an important excitatory amino acid transporter. EAAT1 is mainly responsible for the transport of aspartate (Asp) and glutamate (Glu) in and out of the cell through the cell membrane, and plays an important role in regulating animal health and growth. To date, research on *SLC1A3* has mostly focused on its role in the nervous system and tumor tissues, whereas little is known about the regulation of *SLC1A3* in other systems and tissues.

This paper reviews the expression, distribution, and biological function of *SLC1A3* in various animal tissues and organs. *SLC1A3* exhibits the highest expression in the nervous system of animals. It participates in excitatory conduction in the synaptic cleft by transporting the neurotransmitter Glu, thus maintaining the normal functioning of the nervous system and preventing damage to the nervous system caused by the neurotoxic effects of Glu. *SLC1A3* is also widely distributed in the digestive, circulatory, motor, endocrine, and reproductive systems and plays an important role in regulating mitochondrial function, cell proliferation, metabolism, nutrition, and immunity.

We analyzed the gene regulatory mechanism of *SLC1A3* in the nervous system and mitochondria. In the nervous system, *SLC1A3* is expressed by astrocytes and maintains a low concentration of extracellular Glu by transporting Glu from the synaptic cleft into the cell, thereby preventing glutamate-induced excitotoxicity in the nervous system.

Reduced expression and function of *SLC1A3* induce neurodegeneration in the brain matter, thus creating a space for cancer cells to survive. Additionally, *SLC1A3* is responsible for the intracellular transport of Glu and Asp between the cytoplasm and mitochondria, as well as maintenance of the normal operation of the tricarboxylic acid (TCA) cycle and mitochondrial electron transport chain (ETC) to promote cell proliferation and restore cellular function. For example, *SLC1A3* helps cancer cells to survive under nutrient-limiting conditions by transporting Asp under conditions of cellular glutamine starvation. *SLC1A3* ensures high uptake of Glu in the heart to maintain the normal state of electron acceptors and the TCA cycle, thereby promoting the functioning of cardiomyocytes and protecting the heart under hypoxic or ischemic conditions. In case of ETC inhibition, an insufficient supply of electron acceptors in the cells inhibits *de novo* glutamine biosynthesis. *SLC1A3* replaces the electron acceptor in the ETC, thereby transporting Asp and restoring the anabolism of Asp, which is beneficial for cell proliferation.

Finally, *SLC1A3* is expressed in different tissues and cells and exhibits a potential regulatory effect on the growth and metabolism of the body. *SLC1A3* can be used as a transporter of acidic amino acids, and in the urea cycle, TCA cycle, and the malate/aspartate shuttle to provide nutrition, relieve oxidative stress, and enhance immunity. Therefore, extensive research and discussion on the functioning of acidic amino acid transporters such as *SLC1A3* can provide a theoretical basis using them as key targets for regulating animal health and improving disease treatment.

***SLC1A3*, amino acid transporters, acidic amino acids, nervous system, mitochondria**

doi: [10.1360/TB-2022-0421](https://doi.org/10.1360/TB-2022-0421)