

# 神经酰胺在细胞凋亡中的作用

胡庆柳 陈桂明 朴英杰

(第一军医大学中心实验室 广州 510515)

细胞凋亡可由多种生理和应激因子引起,凋亡存在不同的信号途径,某种因子可激活一种或几种特定的信号途径,特定信号途径的激活也有细胞特异性。多种上游信号途径在下游汇聚,激活一个共同的使凋亡细胞降解的最终效应机制<sup>[1]</sup>。这种最终效应机制涉及到 ICE/Ced-3 半胱氨酸蛋白酶家族。Hannun<sup>[2]</sup>等最先发现神经鞘氨醇等可溶性神经鞘脂类能抑制蛋白激酶 C(PKC)的作用,表明神经鞘脂类参与了信号转导。后来发现神经酰胺作为神经鞘脂类的成员之一,是一个重要的第二信使<sup>[3]</sup>,并能介导细胞凋亡和其他细胞活性。最近的研究表明,神经鞘磷脂信号转导途径是介导多种细胞膜受体和环境应激因子引起凋亡的一个上游机制<sup>[4,5]</sup>。神经酰胺在这一过程中起重要作用。下面从几个方面阐述神经酰胺在介导细胞凋亡中所起的作用。

## 一、神经酰胺的代谢

神经酰胺可由两条途径产生:(1)二氢鞘氨醇和酯酰辅酶 A 在神经酰胺合成酶作用下合成二氢神经酰胺,并迅速氧化为神经酰胺;(2)鞘磷脂在磷脂酶 C 催化下降解为磷酸胆碱和神经酰胺<sup>[6]</sup>。神经酰胺一旦形成便可作为其它各种鞘磷脂的支架,例如半乳糖神经酰胺、葡萄糖基神经酰胺、酰基神经酰胺、神经酰胺磷酸酯等。神经酰胺还能可逆地形成鞘氨醇和鞘氨醇-1-磷酸<sup>[7]</sup>。鞘氨醇-1-磷酸和神经酰胺是两类重要的代谢产物,它们通过活化或抑制蛋白激酶、磷酸酶、离子通道,传递细胞生长和凋亡的信号<sup>[8]</sup>。

## 二、神经酰胺在神经鞘磷脂途径中充当第二信使

神经鞘磷脂途径是一个普遍存在的,进化过程中保留下来的信号系统,类似于 cAMP 和磷酸肌醇途径。鞘磷脂主要集中在哺乳动物细胞膜上,大多数哺乳动物细胞几乎都是通过神经鞘磷脂途径进行信号转导的。鞘磷脂的生物合成涉及到鞘磷脂合成酶将磷酸胆碱头部基因由磷脂酰胆碱转移到神经酰胺上<sup>[9]</sup>。神经鞘磷脂酶的磷脂酶 C 水解神经鞘磷脂的磷酸二酯键,产生神经酰胺和磷酸胆碱。因此,神经酰胺在神经鞘磷脂代谢途径中是一个中间成分,既是神经鞘磷脂的合成前体,又是代谢产物(图 1)。

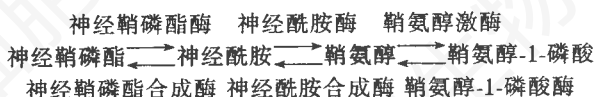


图 1 神经酰胺和鞘氨醇-1-磷酸代谢途径

神经鞘磷脂途径的信号传递与神经酰胺的产生有关,神经酰胺充当第二信使激活各种细胞功能<sup>[10,11]</sup>。

对凋亡过程中神经鞘磷脂信号转导系统的研究表明,细胞外应激因子激活酸性神经鞘磷脂酶,催化细胞膜上的神经鞘磷脂产生神经酰胺,神经酰胺将信号传递到细胞内相应的靶分子,启动凋亡。一些细胞因子和环境应激因子(包括 TNF $\alpha$ 、CD95/Fas/APO-1、电离辐射、紫外线、热休克和氧应激)能激活神经鞘磷脂酶,迅速地诱发神经酰胺的产生。陈桂明等<sup>[12]</sup>用紫外线 B 波段照射 NIH3T3 细胞,能迅速提高细胞内神经酰胺的含量。可通透细胞的神经酰胺类似物能模拟应激因子诱发凋亡的效应<sup>[12]</sup>。Haimovitz, F. A. 等<sup>[13]</sup>在研究中发现,佛波酯(phorbol ester)能抑制射线照射后神经酰胺的产生,同时遏制凋亡,而加入外源性 C<sub>2</sub>-神经酰

胺可抵消佛波酯的效应,恢复凋亡。用 C<sub>2</sub>-神经酰胺处理 HL-60 细胞,细胞中 c-myc、bcl-2 mRNA 的表达明显下调,并诱发细胞凋亡<sup>[14]</sup>。Zhou, H.<sup>[15]</sup>等在研究中发现,神经酰胺可以作为抗凋亡激酶(Akt)的上游信号降低其活性,而促进凋亡。

### 三、神经鞘磷脂途径连接 SAPK/JNK 凋亡信号转导途径

凋亡信号从细胞膜传到细胞质和细胞核的细节问题还不清楚。Haimovitz, F. A.<sup>[25]</sup>等证实许多细胞类型中,神经酰胺通过 SAPK/JNK (stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal protein kinase) 路径引起细胞凋亡。Verheij, M.<sup>[5]</sup>等在原代培养的牛内皮细胞和 U937 单核白血病细胞中发现, TNF $\alpha$  和环境应激因子在数秒内可诱发神经酰胺的产生和激活 SAPK/JNK 信号传导系统。用神经酰胺类似物或神经鞘磷脂酶可直接升高细胞中的神经酰胺,也可以激活 SAPK/JNK 系统,但不激活 ERK (extra cellular signal-regulated kinase) 激酶系统。Xia, Z. 及其同事<sup>[17]</sup>也报道了凋亡中 SAPK/JNK 的参与。去除 PC-12 细胞中的神经生长因子(NGF),可激活 SAPK/JNK 和 p38 信号系统,同时伴有 ERK 的失活。这一协调效应对于凋亡的进程至关重要,并提示 SAPK/JNK 和 ERK 的平衡可能是影响凋亡结局的关键。这一设想在 Spiegel 及其同事<sup>[7]</sup>的研究中得到证实。用 TNF 或神经酰胺类似物处理 U937 单核白血病细胞,可激活 SAPK/JNK 系统导致凋亡,而脂质第二信使鞘氨醇-1-磷酸(SPP)激活 ERK 系统,刺激增殖。在加入 TNF 或神经酰胺类似物的同时加入 SPP,则迅速阻遏信号通过 SAPK/JNK 系统,激活 ERK,抑制凋亡,而 SPP 不影响 TNF 诱导神经酰胺生成。提示 SAPK/JNK 的失活可能阻遏凋亡。

John, K.<sup>[18]</sup>等利用 HL-60 人早幼粒细胞,比较 TNF $\alpha$ 、鞘磷脂酶和 C<sub>2</sub>-神经酰胺对

SAPK/JNK、NF- $\kappa$ B、MAPK 的激活作用,发现这三者都能显著提高 SAPK/JNK 的活性,其中神经酰胺能持久提高 SAPK/JNK 的活性,并对 ERK1 和 ERK2 具有抑制作用。而 C<sub>2</sub>-神经酰胺类似物, DL-赤-二氢-C<sub>2</sub>-神经酰胺,却无此作用,说明神经酰胺对 SAPK/JNK 的作用具有结构特异性。Verheij, M. 等<sup>[5]</sup>证实在 U937 人单核白血病细胞和牛主动脉内皮细胞中, C<sub>2</sub>-神经酰胺、鞘氨醇激酶和外界刺激可提高 SAPK/JNK 活力 20 - 40 倍,而等克分子的脂类产物如: 1,2-二辛酰基甘油、1,2-二辛酰基-sn-甘油-3-磷酸脂、花生四烯酸和 C<sub>2</sub>-二氢神经酰胺,不能激活 SAPK/JNK,也不能引发细胞凋亡。

SAPK/JNK 信号途径涉及到 MEKK1、SEK1、SAPK 和 c-Jun 的顺序激活<sup>[16]</sup>。TAM-67 是一个缺乏氮末端的 c-Jun 突变体。经 TAM-67 转染的 U937 和 BAE 细胞并不抑制 calphostin C 和 cytosine arabinoside 引发的细胞凋亡,提示同一细胞可能存在多条凋亡途径<sup>[5]</sup>, SAPK/JNK 信号转导系统并不是介导细胞凋亡的唯一途径。

神经酰胺是如何激活 SAPK/JNK 路径的? 最近有人报道在 A673 人横纹肌软骨瘤细胞中,神经酰胺激活 MEKK 家族中的 TAK1,而活化的 TAK1 能激活 SAPK/JNK 路径,当 TAK1 表达缺乏时,将干扰神经酰胺对 SAPK/JNK 的活化,说明神经酰胺可能通过 TAK1 活化 SAPK/JNK 路径<sup>[19]</sup>。

### 四、神经酰胺介导的凋亡信号途径与 ICE/Ced-3 蛋白激酶的相互作用

哺乳动物细胞中 ICE (IL-1 $\beta$  converting enzyme) 的异位表达会引发凋亡<sup>[20]</sup>, ICE 相关蛋白酶负责凋亡细胞降解<sup>[21]</sup>。

细胞外信号激活 ICE/Ced-3 蛋白酶影响凋亡的机制受到越来越多的关注。据报道,与凋亡因子有关的细胞因子(如 TNF- $\alpha$  和 Fas/Apo-

1/CD95)受体,通过这一种受体相关“死亡区间”结合蛋白系统与ICE/Ced-3效应机制相联。去除“死亡区间”的55KDaTNF- $\alpha$ 受体<sup>[22]</sup>和CD95<sup>[23]</sup>,或FADD/MORT1<sup>[23]</sup>的过度表达,会阻止配体诱导的神经酰胺的产生和凋亡的发生。神经酰胺的产生可能位于“死亡区间”结合蛋白系统的下游。另外Dbaibo, G. S.等<sup>[26]</sup>在研究中发现,神经酰胺对基因毒性物质的反应依赖p53基因的表达,并认为p53在信号途径中位于神经酰胺的上游。

神经酰胺作为第二信使,连接SAPK/JNK凋亡信号转导途径、介导细胞凋亡。神经酰胺介导凋亡的信号途径与ICE/Ced-3蛋白激酶信号途径又密切相关。SAPK/JNK信号途径与ICE/Ced-3蛋白激酶信号途径是否相连?神经酰胺介导细胞凋亡是否还存在多条途径?各途径之间有什么联系?这些问题有待于进一步探索。

### 摘 要

本文从神经酰胺的代谢、神经酰胺在神经鞘磷脂途径中充当第二信使、神经鞘磷脂途径连接SAPK/JNK(stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal protein kinase)凋亡信号转导途径、神经酰胺介导的凋亡信号途径与ICE/Ced-3蛋白激酶的相互作用这四个方面阐述了神经酰胺在介导细胞凋亡中所起的中心作用,以利于了解促进、抑制凋亡的机制及其协同机制,为进一步的研究打好理论基础。

### 参 考 文 献

- [1] Yuan, J. et al., 1993, *Cell*, **75**:641-652.  
 [2] Hannun, Y. A. et al., 1989, *Science*, **243**:500.

- [3] Kolesnick, R. N., 1992, *Trends. Cell. Biol.*, **2**:232.  
 [4] Kolesnick, R. et al., 1994, *Cell*, **77**:325-328.  
 [5] Verheij, M. et al., 1996, *Nature*, **380**:75-79.  
 [6] Louis, A. et al., 1997, *Biochem. Pharmacol.*, **53**(5):615.  
 [7] Cuvillier, O. et al., 1996, *Nature*, **381**(6585):800.  
 [8] 孙蕾等, 1998, 军事医学科学院院刊, **22**(3):233-235.  
 [9] Merrill Jr, A. H. et al., 1990, *Biochem. Biophys. Acta*, **1044**:1-12.  
 [10] Ballou, L. R. et al., 1996, *Biochem. Biophys. Acta*, **1301**:273-287.  
 [11] Spiegel, S. et al., 1996, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **8**:159-167.  
 [12] 陈桂明等, 1999, 中国学术期刊文摘(科技快报), **5**(2):203-204.  
 [13] Haimovitz, F. A. et al., 1994, *J. Exp. Med.*, **180**:525-53.  
 [14] 辛宏等, 1999, 中国免疫学杂志, **15**(5):223-227.  
 [15] Zhou, H. et al., 1998, *J. Biol. Chem.*, **273**(26):16568-16576.  
 [16] Kyriakis, J. M. et al., 1994, *Nature*, **369**:156-160.  
 [17] Xia, Z. et al., 1995, *Science*, **270**:1326-1331.  
 [18] Westwick, J. et al., 1995, *J. Biol. Chem.*, **270**:22689.  
 [19] Shirakabe, K. et al., 1997, *J. Biol. Chem.*, **272**:8141.  
 [20] Miura, M. et al., 1993, *Cell*, **75**:653-660.  
 [21] Fraser, A. et al., 1996, *Cell*, **85**:781-784.  
 [22] Wiegmann, K. et al., 1994, *Cell*, **78**:1005-1015.  
 [23] Cifone, M. G. et al., 1995, *EMBO. J.*, **14**:5859-5868.  
 [24] Chinnaiyan, A. M. et al., 1996, *J. Biol. Chem.*, **271**:4573-4576.  
 [25] Haimovitz, F. A. et al., 1997, *Br. Med. Bul.*, **53**(3):539-553.  
 [26] Dbaibo, G. S. et al., 1998, *J. Clin. Inv.*, **102**(2):329-339.

如错过邮局订阅时间,请直接与编辑部联系(联系地址和电话见本期第42页)。

《Cell Research》编辑部  
 《细胞生物学杂志》