



钙离子作为细胞内化学信使的作用机制

黄健怡 赵大骁

(北京医学院)

在过去的十几年中, 对于细胞内被称为“第二信使”的环腺苷酸(cAMP)和环鸟苷酸(cGMP)进行了广泛深入的研究, 提出了第二信使——蛋白激酶系统的细胞控制论假设, 在分子水平上阐明了一些细胞生物学受控活动。1970年Rasmussen提出了 Ca^{++} 作为细胞内化学信使的假说。十年来的工作证明, Ca^{++} 与cAMP和cGMP一样, 在信息传递上起着耦联作用, 细胞内存在着依赖 Ca^{++} 的蛋白激酶, Ca^{++} 的作用有赖于细胞内广泛存在的一种依赖钙离子的调节蛋白(Ca^{++} -Dependent Regulator, CDR或称Calmodulin)。

一、 Ca^{++} 是细胞内的化学信使

1968年Sutherland首先提出了细胞有第二信使的假说^[1], 并证明cAMP是第二信使, 因为(1)作为第一信使的激素作用于细胞膜可使作为第二信使的该物质在细胞内的含量有明显的变化;(2)阻断该物质在细胞内的代谢, 常可加强第一信使的生理效应;(3)人工引入外源的该物质, 可以模拟第一信使的生理效应;(4)细胞内存在依赖于该物质的激酶系统, 此系统的激活导致了许多功能蛋白质的磷酸化。其后, 有人又发现了cGMP也可以作用于依赖于它的蛋白激酶系统从而起到第二信使的作用。

60年代以来, 许多作者发现 Ca^{++} 与环核苷酸的关系非常密切。在小肠和支气管平滑肌细胞中, 乙酰胆碱作为第一信使与细胞膜受体结合, 引起 Ca^{++} 从膜上释放或从细胞外摄取, 从而引起肌细胞的收缩; 肾上腺素作为第一信

使与膜受体相互作用, 使 Ca^{++} 被细胞膜再摄取或从细胞内外流, 引起肌细胞的舒张。在这里 Ca^{++} 与cAMP、cGMP一起, 作为第二信使调节细胞活动。有人证明, 人为地用离子导体 A_{23187} 增加胞浆内 Ca^{++} 的浓度, 可以模拟许多第一信使的效应。而用EGTA(乙二醇双乙胺醚-N, N'-四乙酸)耗竭细胞外 Ca^{++} 时, 则可以完全抑制细胞内生化反应的进行^[2]。此外, Ca^{++} 在内、外分泌腺神经节、肝细胞及脂肪细胞的各代谢途径, 细胞的有丝分裂, 卵细胞的受精, 视杆细胞的活化等过程中, 也通过活化蛋白激酶系统而起到细胞内化学信使的作用^[2,3,4,5]。

二、细胞内依赖于 Ca^{++} 的蛋白激酶系统

环核苷酸是通过激活或抑制特异的蛋白激酶而调节细胞功能的。Weher等认为, Ca^{++} 在肌细胞中作用于肌钙蛋白—原肌凝蛋白—肌凝蛋白—肌动蛋白系统的方式与cAMP作用于蛋白激酶的方式极为相似, 即 Ca^{++} 与肌钙蛋白结合, 引起肌动蛋白与肌凝蛋白相互作用, 而使肌细胞收缩^[4,6]。Heilmeyer认为糖原分解过程中的磷酸化酶b激酶是一种依赖于 Ca^{++} 的蛋白激酶。当 Ca^{++} 浓度升高到一定程度时即可使这种非磷酸化形式的酶磷酸化, 从而引起活化^[7]。现已证实, 在哺乳动物细胞内确实存在着某种依赖于 Ca^{++} 的蛋白激酶系统^[8], 在一种膜相关因子存在的条件下, 这种蛋白激酶可以被低浓度的 Ca^{++} ($5 \times 10^{-5}M$)激活, 而不被其他二价离子如 Mg^{++} 、 Mn^{++} 、 Co^{++} 等激活, 亦不被环核苷

表 1 三种蛋白激酶的一般性质^[8]

蛋白激酶	A	G	C
活化因子	cAMP	cGMP	Ca ⁺⁺ 、胞膜
分子量	18×10 ⁴	12~16×10 ⁴	7.7×10 ⁴
亚单位结构	R ₂ C ₂	E ₂	?
半径	60Å	56Å	42Å
等电点	5.3	5.7	5.6
最适 pH	7.0	7.5~7.8	7.0~8.0
对 ATP 的 K _m 值	6.7×10 ⁻⁶ M	1.0×10 ⁻⁵ M	6.6×10 ⁻⁶ M
对组蛋白的 K _m	140 微克/毫升	400 微克/毫升	70 微克/毫升
对活化因子的 K _a 值	2.0×10 ⁻⁸ M	1.7×10 ⁻⁸ M	<5×10 ⁻⁵ M

酸所激活,说明此酶对 Ca⁺⁺ 有特异性。另外此酶还可被依赖于 Ca⁺⁺ 的蛋白酶或肌钙蛋白

表 2 受 Ca⁺⁺ 调节的生化过程^[2]

细胞组份	反应过程
细胞膜	↑ *酶的结合 ↑ 葡萄糖转运 ↑ K ⁺ 的外流 ↓ 腺苷酸环化酶的活化 ↑ 内外分泌腺活动 ↑ 细胞分裂的微丝运动 ↑ 神经介质的释放
微粒体	↑ 蛋白质合成
线粒体膜	↑ α-酮戊二酸的转运 ↑ 腺嘌呤核苷酸的转运 ↑ 磷酸甘油脱氢酶的活化
线粒体	↑ 丙酮酸脱氢酶的活化 ↑ 12-25(OH)D ₃ 脱氢酶的活化
胞浆	↑ 肌钙蛋白的解离 ↑ 磷酸化酶 b 激酶的活化 ↑ 鸟苷酸环化酶的活化 ↑ 激活磷酸二酯酶改变微管聚合 ↓ 1,6-二磷酸果糖酶的活化 ↓ 间隙联接的通透性
胞核	↑ DNA 的合成 ↓ 有丝分裂装置的形成

及磷脂酰肌醇、磷脂酰丝氨酸等激活,而卵磷脂、神经磷脂却不能使其活化。表 1 列举了三种激酶(1)依赖于 cAMP 的蛋白激酶(PK-A);(2)依赖于 cGMP 的蛋白激酶(PK-G);(3)依赖于 Ca⁺⁺ 的蛋白激酶(PK-C)的一些性质。尽管如此,三种激酶的底物却有着许多相似性,它们很可能是协同作用的。

Ca⁺⁺ 通过激活或抑制依赖它的一系列蛋白激酶系统而对细胞内的广泛反应过程进行着调节(见表 2)。

三、依赖于 Ca⁺⁺ 的调节蛋白

1970年 Cheung 首先从牛脑中分离出环核苷酸磷酸二酯酶的一种依赖于 Ca⁺⁺ 的蛋白类激活因子,并命名为 Calmodulin。Lin 等 1974 年首先证明 Calmodulin 仅仅当有 Ca⁺⁺ 存在时才能激活环核苷酸磷酸二酯酶^[9]。其后,许多作者从心脏、睾丸、子宫平滑肌及骨骼肌中提纯了这种因子,并证明这种因子广泛存在于各种动物体内。

一系列的研究证明依赖 Ca⁺⁺ 的调节蛋白是一种分子量为 16,700 的、对热稳定的酸性蛋白质,等电点在 4.3 左右。它由一条肽链组成,含有 140 个氨基酸,其中 30% 是谷氨酸和天冬氨酸,不含色氨酸和半胱氨酸,然而在 115 位上含有一个三甲基赖氨酸,据认为,后者对 CDR 的特异功能具有重要意义。在 CDR 中由于苯丙氨酸与酪氨酸的比率较高(8/2),因此其谱线特征为在 253、259、365、269 和 277 毫微米处有 5 个明显的紫外吸收峰,在 282 毫微米处有一个小山肩(Shoulder)。最近,Michael 等人用光谱分析术发现,CDR 存在着四个 Ca⁺⁺ 结合区^[10]。每一个结合区由一个螺旋区及一个 Ca⁺⁺ 结合环所构成。Ca⁺⁺ 结合环又包括 Ca⁺⁺ 配基和另一个螺旋区。Ca⁺⁺ 与 CDR

结合后，引起蛋白质构型的改变，使蛋白质肽链的螺旋程度增加，这就使 CDR 的结构更加稳定^[10]，这也是 Ca^{++} -CDR 与蛋白激酶或其他蛋白质结合的必要步骤。

一般认为，CDR 是 Ca^{++} 的细胞内受体^[3,9]。CDR 存在于细胞内的形式是与多种酶类构成复合蛋白^[11]。许多作者证明 CDR 实际上就是磷酸化酶激酶、磷脂酶激酶、肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase)、环核苷酸磷酸二酯酶等多种酶类的调节亚单位^[11]。 Ca^{++} 通过与 CDR 结合造成调节亚单位构型的变化，并因而导致催化亚单位构型的变化，使细胞内生化反应的速度和方向得到调节。由于 CDR-酶复合体存在的亚细胞结构不同，它和 Ca^{++} 结合时的构型变化也不同，因而激发的生物效应也就不一样(见图 1)。这些生物效应过程多数是需要 Ca^{++} 结合于 CDR 并活化了蛋白激酶，使其些蛋白质磷酸化，或许这是一种能量的转移方式^[10]。

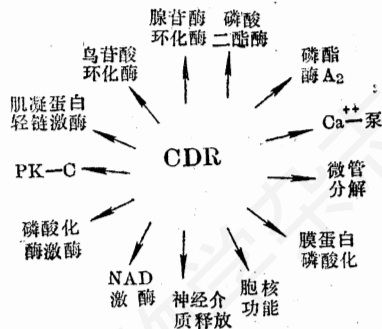


图 1

目前，有关 CDR-酶复合体知道得较多的是磷酸化酶激酶，它催化无活性的磷酸化酶 b 转变成有活性的磷酸化酶 a。它的作用有赖于 Ca^{++} 的存在。进一步的研究证明，这种酶具有 $(\alpha, \beta, \gamma, \delta)_4$ 的亚单位。各亚单位分子量分别为 145,000, 128,000, 45,000 和 17,000 道尔顿。 α 和 β 亚单位可以被依赖于 cAMP 的蛋白激酶所活化，而 δ 亚单位却显然就是 CDR，因为无论是分子量、热稳定性、电泳行为、离子交换层析的特性、紫外吸收光谱、

氨基酸序列分析及其活化其他依赖 CDR 酶系的能力都证明了这一点^[3]。上述的同一个酶，既受 cAMP 调节又受 Ca^{++} 调节的现象，对于第二信使系统作为一个整体进行控制细胞的活动，具有非常重要的意义。也许这就是 Ca^{++} -cAMP、 Ca^{++} -cGMP 相互作用的基本方式。

细胞内还存在着 Ca^{++} 的拮抗物。Grand 从猫的脑、肾、肝及主动脉和子宫分离出了若干种 CDR 的结合蛋白，它们的分子量分别为 22,000、14,000、77,000 和 61,000。其中分子量为 22,000 的蛋白质可以与 CDR 和猫骨骼肌的肌钙蛋白以依赖 Ca^{++} 的方式相互作用，也可以抑制 CDR 激活的磷酸二酯酶的活性。但其对肌钙蛋白轻链激酶的作用轻微^[12]。这种抑制因子的存在，使得 Ca^{++} -CDR-PKC 在细胞内功能上的自身调节成为较为肯定的事实。

四、 Ca^{++} 与环核苷酸类第二信使的相互作用

众所周知，cAMP/cGMP 比值对各种细胞内生化反应有非常重要的意义，而 Ca^{++} 却起了调节这一比值的作用。亦即 Ca^{++} 的浓度变化通过 CDR 和 PK-C 影响到环核苷酸代谢的各种关键酶，从而改变了细胞内环核苷酸类第二信使的浓度，并影响到细胞的各项生化途径的次一级代谢酶。另一方面，环核苷酸也通过依赖于它们的蛋白激酶而影响 Ca^{++} 在细胞内的浓度。这样，三种第二信使相辅相成地发挥对

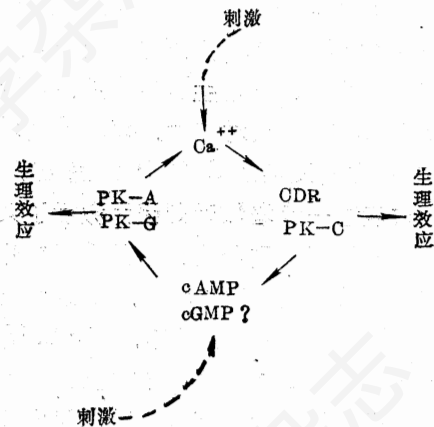


图 2

细胞的调节作用(图2)。

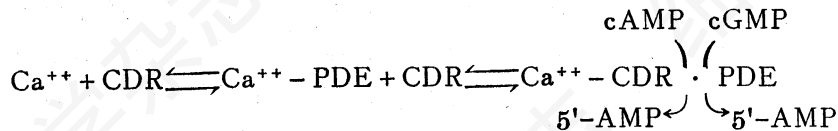
(一) 环核苷酸对 Ca^{++} 的调节作用

许多作者证实,无论是外源的还是内源的cAMP都可以使胞浆 Ca^{++} 的浓度升高^[2]。此作用可以包括以下几个方面:1.cAMP使细胞膜对 Ca^{++} 的摄入增加,或者使 Ca^{++} 从膜结合蛋白上释放。有人证明,细胞上有 Ca^{++} 的结合位点,而这些特异的 Ca^{++} 结合位点实际上就是膜上的某些蛋白质。当cAMP浓度升高时激活了膜上结合的依赖于cAMP的蛋白激酶,使膜上转运 Ca^{++} 的调节蛋白磷酸化,引起构型改变,使 Ca^{++} 内流的通道开放,并使 Ca^{++} 从细胞膜的结合位点释放^[2,5,8]。2.cAMP使细胞内的 Ca^{++} 从细胞器,特别是线粒体内释放,此作用是细胞器的单位膜上发生的磷酸化作用的结果。3.cAMP可以抑制细胞器上依赖于ATP的 Ca^{++} 的转运系统,从而使细胞器对 Ca^{++} 的摄取显著衰减。cGMP可以通过相同的方式增加胞浆 Ca^{++} 的浓度,但有人持不同意见。此外,有的作者指出,在某些组织中,cAMP对 Ca^{++} 通透性的调节是双向的,即在激素作用的早期,cAMP增加,

Ca^{++} 通透性也随着增加;但是随着cAMP含量的增加,由于膜上某些蛋白的磷酸化作用,却又使 Ca^{++} 通透性逐渐衰减^[13]。

(二) Ca^{++} 对环核苷酸的调节作用

Ca^{++} 可以通过CDR控制cAMP和cGMP的浓度^[2,9]。1. Ca^{++} 对腺苷酸环化酶的双向调节。低浓度的 Ca^{++} 激活膜上的腺苷酸环化酶,使cAMP的浓度增加。据认为,这是由于 Ca^{++} 与CDR结合使膜上某些蛋白质磷酸化,导致了腺苷酸环化酶的活化^[3,10]。许多作者证明,较高浓度的 Ca^{++} 可以抑制腺苷酸环化酶,据认为这是由于 Ca^{++} 与 Mg^{++} 之间的竞争所引起的^[14]。当 Ca^{++} 浓度升高到一定程度时, Mg^{++} 在细胞内腺苷酸环化酶上的结合位点被 Ca^{++} 所取代,结果使腺苷酸环化酶复合物从有活性变为无活性状态。2. Ca^{++} 通过磷酸二酯酶(Phosphodiesterase PDE)调节环核苷酸^[15]。Cheung等认为 Ca^{++} 首先与其细胞内受体——CDR结合成为 Ca^{++} -CDR复合物, Ca^{++} 引起的CDR的稳定的更加螺旋化的结构,有利于复合物与PDE结合并使后者活化,即:



根据cAMP、cGMP和 Ca^{++} 相互调节的事实,Rasmussen提出了所谓“闭合环路(Close Loop)”的负反馈假说。他认为在大多数组织细胞内,一些生理生化效应可取决于cAMP和 Ca^{++} 的相对浓度。cAMP的增加导致 Ca^{++} 的内流及其从 Ca^{++} 池的逸出,但当cAMP浓度进一步增加时则因为激活了某些激酶,使一些膜蛋白磷酸化,于是 Ca^{++} 通透性又衰减。当 Ca^{++} 浓度增加时,导致腺苷酸环化酶和PDE活性的双双增加,使cAMP的更新率大大加快; Ca^{++} 在细胞内的大量堆积也抑制了腺苷酸环化酶的活性,使cAMP的浓度被控制在一定水平以下。

Ca^{++} 作为第二信使,以及 Ca^{++} 与cAMP、cGMP的关系的研究,在生物化学、生理学、细胞生物学和药理学等方面都是很重要的。随着对 Ca^{++} 及其他细胞内化学信使的研究的不断深入,对细胞的功能、药物作用的机制、肿瘤的发生与治疗等的认识,一定会不断取得新的进展。

参 考 文 献

- [1] Sutherland, E. W. et al., 1968 *Circulation*. 37:279—306.
- [2] Rasmussen, H. 1977 *Physiol. Rev.* 57: 412—509.
- [3] Brostrom, C.O. et al., 1979 *J. Biol. Chem.* 254:7548—7557.