

- Cell Biology 1984 (Abs) pp. 359, ed. by Seno, S. and Y. Okada.
- [7] Jerne, N. K., 1974, *Ann. Immunol.*, 125 C, 373.
- [8] Blaser, K. et al., 1982, *Prog. Allergy*, 32: 248.
- [9] Blaser, K. et al., 1979, *Eur. J. Immunol.*, 9: 1017—1020.
- [10] Blaser, K. et al., 1981, *J. Immunol.*, 126: 1180.
- [11] Blaser, K. et al., 1983, *Immunol.*, 48: 423—431.
- [12] Tada, T. and K. Okumura, 1971, *J. Immunol.*, 107: 1137—1145.
- [13] Okumura, K. and T. Tada, 1971, *J. Immunol.*, 107: 1682—1689.
- [14] Hamaoka, T. et al., 1973, *J. Exp. Med.*, 138: 538—556.
- [15] Kimoto, M. et al., 1977, *J. Immunol.*, 118: 840—845.
- [16] Kishimoto, T., 1982, *Prog. Allergy*, 32: 268.
- [17] Kishimoto, T. et al., *J. Immunol.*, 117: 396—404.
- [18] Suenmura, M. et al., 1977, *J. Immunol.*, 119: 149—155.
- [19] Watanabe, T. et al., 1978, *J. Immunol.*, 121: 2113—2117.
- [20] Ishizaka, K., 1982, *Prog. Allergy*, 32: 5—9.
- [21] Kishimoto, T. et al., 1972, *J. Immunol.*, 109: 12.
- [22] Katz, D. H., 1980, *Prog. in Clin. Immunol.*, 4: 127.
- [23] Katz, D. H., 1979, *Clin. Allergy*, 9: 609.
- [24] Suenmura, M. et al., 1979, *J. Immunol.*, 123: 918—924.
- [25] Huff, T. F. et al., 1983, *J. Immunol.*, 131: 1090.
- [26] Sarfati, M. et al., 1984, *Immunol.*, 53: 197—205.
- [27] Sarfati, M. et al., 1984, *Immunol.*, 53: 783—790.

质膜肌醇脂质代谢与细胞外信号的转换

李润生 左嘉客

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

有机体、尤其是高等哺乳动物都是一个结构层次分明的复杂系统。其各个组成部分在结构与功能上存在着十分密切的联系，而细胞外信号对靶细胞生理活动的调控是实现这种协调关系的主要方式。所以，靶细胞如何将细胞外信号转换成细胞内应答反应，其机制一直是一个很重要的研究领域。目前已深入、广泛了解到cAMP水平的改变就是某种转换机制产生的第二信使。此外，还普遍注意到靶细胞接受外界调控时，质膜肌醇脂质代谢明显加快，而且伴随着细胞内游离 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$)的水平上升，以及其它一些分子水平的变化。因此，质膜肌醇脂质代谢的变化很可能参与了靶细胞的应答反应，或者说是细胞外信号转换过程中一

桩早期事件。

一、兴奋剂(agonist)促进质膜肌醇脂质的代谢

1. 质膜肌醇脂质的代谢

肌醇脂质包括磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰肌醇-4-磷酸(PIP)和磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(PIP_2)。三者总含量约占质膜脂质的10%，主要分布于质膜的细胞质一侧。动物细胞的肌醇脂质的甘油骨架2位碳上，接有一个酰基化的花生四烯酸链。

肌醇脂质在内质网中合成后，由胞浆的可溶性磷脂交换蛋白运到质膜中。在质膜及其附近的胞浆中，发现了一些参与肌醇脂质极性端

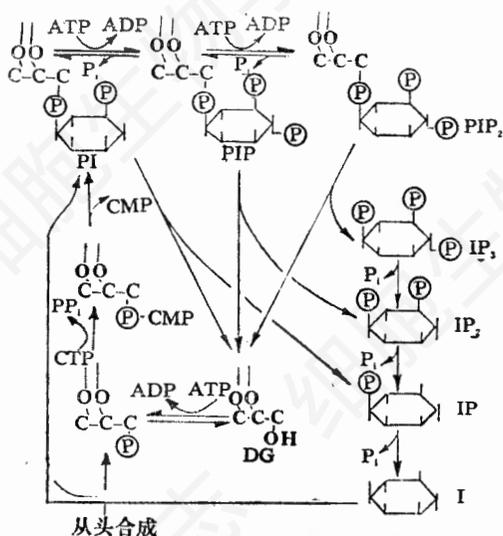


图1 质膜肌醇脂质的代谢过程

代谢的酶，如PI激酶、 PIP_2 激酶和磷酸单酯酶。它们的存在说明了质膜肌醇脂质彼此之间可通过磷酸化与去磷酸化反应互相转化。在红细胞，转化过程受到了生理状态的调控，并达到了动态平衡^[1]

另外，质膜肌醇脂质还能被相应的磷酸二酯酶水解，水解产物之一为二酰甘油(DG)；另一水解产物则是肌醇-1,4,5-三磷酸(IP_3)；或肌醇-1,4-二磷酸(IP_2)、或肌醇-1-磷酸(IP)。它们经过去磷酸化反应生成肌醇(I)，后者与DG一起重新参与质膜肌醇脂质的合成(见图1)。

2. 兴奋剂促进质膜肌醇脂质的代谢过程

研究兴奋剂(激素和神经递质)对靶细胞肌醇脂质代谢的影响的方法大致可分为两类：一种是将细胞或组织培养在含有 $[^3H]IP$ 的培养液中，然后用兴奋剂处理之，数十分钟后测定质膜中放射性PI的含量。Hokin等人利用该方法首次观察到乙酰胆碱促进 $[^3H]IP$ 参与PI合成的结果^[2]。后来利用各种兴奋剂刺激一些不同类型的细胞，都出现 $[^3H]IP$ 参与PI加速合成的结果，表明了这种现象具有普遍意义^[1,3]。另一种方法是将已在含有 $[^3H]IP$ 培养液中温育了数小时后的细胞或组织，转移到无放射性

的培养液中，再用兴奋剂处理，接着测定胞质中 $[^3H]IP$ 的含量，结果发现 $[^3H]IP$ 在处理后几秒至几分钟内迅速增加，而质膜中的 $[^3H]PI$ 的含量则相应下降。根据大量的观察，Michell等人认为兴奋剂促进质膜PI水解，由此引起IP水平提高^[1]。进一步的研究表明，质膜中 PIP_2 和PIP的含量也明显下降，而 IP_3 和 IP_2 的水平迅速上升。所以Berridge认为，兴奋剂加速了 PIP_2 的水解^[4]。至于PIP、PI的含量降低，可以理解成是磷酸化反应而不是水解反应的结果(见图1)。实际上，用儿茶酚胺处理小鼠腮腺后， $[^3H]IP_3$ 、 $[^3H]IP_2$ 的增加量大大超过了处理前质膜中 $[^3H]PIP$ 和 $[^3H]PIP_2$ 含量的总和^[5]。这就直接证明在 PIP_2 水解时，质膜肌醇脂质之间原有的互相转化的动态平衡被破坏，即PI磷酸化的比率增加。

二、质膜 PIP_2 的水解——细胞外信号转换的机制

细胞外信号和受体结合后，促进了 PIP_2 水解，其产物 IP_3 和DG的水平在十几秒钟内迅速增加，并达到最大值。它们犹如cAMP，广泛地参与了各种细胞的活动，例如肌肉收缩、分泌、细胞分裂、膜运输、电生理现象^[6]、膜融合和受精等等过程。

1. 动员细胞内贮存 Ca^{2+} 的第二信使—— IP_3

在靶细胞 PIP_2 水解时，观察到细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 提高。两者的关系一直是人们注意的问题。在七十年代，普遍认为受体被激活后，会导致质膜的 Ca^{2+} 通道打开，引起细胞外 Ca^{2+} 内流，由此提高 $[Ca^{2+}]_i$ 。在这种情况下， PIP_2 磷酸二酯酶被 Ca^{2+} 激活了^[1]。有关这方面的证据有：1. Ca^{2+} 通道 A_{23187} 可直接促进 PIP_2 水解；2. 在培养液中加入EGTA(Ca^{2+} 螯合剂)就能抑制水解；3. 生化分析表明 Ca^{2+} 确实能激活 PIP_2 磷酸二酯酶。但事实上，兴奋剂在无 Ca^{2+} 的培养液中仍能促进 PIP_2 水解；在生理状态下，靶细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 的变化

并不能有效地激活 PIP_2 磷酸二酯酶^[7]。这就无疑否定了上述观点。

另一方面, 普遍发现 PIP_2 的水解有助于细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 提高。直接用 IP_3 处理肝细胞、胰岛细胞^[8]、卵母细胞^[9]后, 细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 迅速上升, 而且诱发了靶细胞对兴奋剂的处理作出应答反应^[6,9]。亚细胞分层分离实验证明 IP_3 将 Ca^{2+} 从内质网中释放出来^[10], 这是一个 GTP 参与的促进过程^[11]。但 IP_2 和 IP 并无此能力^[10], 所以当 IP_3 去磷酸化降解时, 很可能意味着 IP_3 第二信使的作用衰减了。

2. 蛋白质激酶 C(PKC) 的激活剂——DG

PIP_2 水解的另一产物是 DG。DG 结合在 PKC 上之后, 增加了后者与 Ca^{2+} 的亲合力。当 PKC 再与 Ca^{2+} 结合时就被激活。这一过程并不需要 $[Ca^{2+}]_i$ 的提高^[12]。PKC 为分子量 77 kd 的蛋白, 广泛存在于各种机体的不同组织中。当它处于非活性状态时, 主要分布在细胞质中, 一旦被激活后, 则成为与膜结合的酶^[13]。在无细胞体系中, 它拥有多种底物, 如微管联系蛋白、辅肌动蛋白和蛋白合成起始因子 II。不过, 在生理条件下, PKC 是否能同样地使这些蛋白磷酸化, 则尚需进一步加以证实, 因为在一个完整的细胞中, 还必须考虑到时空因素对 PKC 功能的限制。

令人感兴趣的是, PKC 还能催化核糖体 S_0 蛋白的磷酸化反应^[14], 而 S_0 蛋白在蛋白合成时具有促进 40 s 亚基与 mRNA 结合的作用, 因此该反应很可能参与了翻译水平的调控。PMA、TPA 等是一类致癌的佛波酯 (phorbol ester), 它们在细胞中的受体就是 PKC。当它们激活 PKC 后, 会引起多元效应, 最终导致细胞分裂或其它应答反应^[15]。

作为第二信使, DG 也要经历被降解的过程。该过程的第一步是花生四烯酸(AA)从 DG 中释放出来。AA 本身也是一个很重要的活性因子^[16], 是合成前列腺素的前身物。

3. IP_3 和 DG 双信使的协同作用

IP_3 将 Ca^{2+} 从内质网中释放出来后,

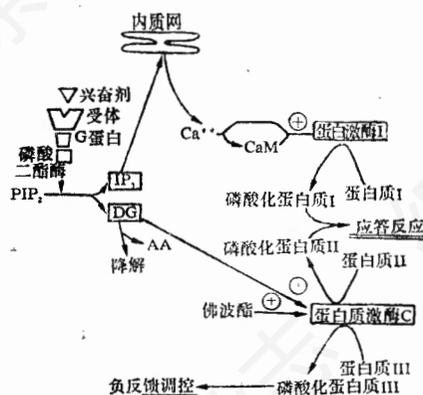


图 2 IP_3 、DG 双信使的协同作用

$[Ca^{2+}]_i$ 提高, 直接或通过钙调素 (CaM) 间接地激活一些蛋白激酶, 而 DG 也能通过 PKC 途径调节一些蛋白的磷酸化反应。两者共同协调, 进一步对细胞外信号作出应答反应(见图 2)。

在肝细胞, 钙调节激活葡萄糖磷酸化酶, 而 PKC 则抑制葡萄糖合成酶的活性, 两者共同使细胞内葡萄糖的含量下降^[16]。在腺细胞的分泌过程中, 双信使的协同作用表现得更为明显。如果用 $A_{2,3187}$ 和佛波酯分别启动 Ca^{2+} 途径和 PKC 途径, 都能触发分泌活动, 但效率很低; 如果以 $A_{2,3187}$ 和佛波酯同时处理靶细胞, 分泌效率才能达到正常的生理水平^[15]。在腺细胞的分泌过程中, 双信使途径的协同作用在时间上可能还有区别: Ca^{2+} 途径可能控制某个应答程序的启动, 而 PKC 途径则维持该程序的深入进行^[17]。

双信使的协同作用并不仅仅表现在应答反应的效率的叠加方面, 而且在质上也有区别。例如, 在细胞分裂过程中, 细胞内一些蛋白的性质及 pH 值发生变化, 这些变化是由双信使控制的^[16]。两者缺一不可, 否则细胞分裂将中断。

4. PIP_2 的水解和细胞应答反应敏感性的调节

在兴奋剂促进质膜肌醇脂质代谢之后, 被 $[^3H]IP$ 标记了的肌醇脂质在兴奋剂的再次刺

激下,可以继续水解,但并非质膜中所有的肌醇脂质皆参与该应答反应^[18]。因此在质膜上很可能存在激素敏感池(hormone-sensitive pool),这些肌醇脂质至少在功能上与其它肌醇脂质不同,它们与细胞应答反应的敏感性有直接的关系。很明显,如果靶细胞要保持对兴奋剂的连续或再次刺激作出应答反应,那么就必须同时合成那些在激素敏感池中被分解的肌醇脂质。在非应答期内,PIP₂虽然也被缓慢地分解,但如果干扰了它们的重新合成途径(见图1),就很可能降低PIP₂水解的比率,从而影响到应答反应的敏感性。例如,六氯化苯可以抑制乙酰胆碱与植物凝集素分别对大脑皮层和淋巴细胞质膜肌醇脂质代谢的促进作用^[1],很有可能是因为六氯化苯是肌醇的结构类似物,从而成为PI合成酶的竞争性抑制剂,由此干扰了激素敏感池的重建。佛波酯预处理细胞后,可以抑制去甲肾上腺素诱发的[³H]-IP积累^[19]。这为PKC途径通过干扰激素敏感池的重建,进而对双信使功能进行负反馈调控提供了可能性。

靶细胞应答反应的敏感性还能通过细胞外信号转换过程中其他环节的变化而受到影响。目前已发现PKC能使肾上腺素受体、上皮生长因子受体^[12]和乙酰胆碱受体^[20]磷酸化,降低受体与兴奋剂的亲和力,从而对受体实行下降调节(Down Regulation)^[12]。通过该途径,应答反应的敏感性受到了负反馈调控。

三、双信使与cAMP酶系的可能关系

某些靶细胞的质膜上存在着两套细胞外信号的转换系统。一为上述的双信使途径,另一就是cAMP酶系。这两套信号转换系统可以参与同一细胞外信号对靶细胞的调控^[21]。然而,对两者之间的相互关系,所知寥寥无几^[3]。

cAMP酶转换系统至少由三个亚基即受体、鸟苷酸结合蛋白(G蛋白)和cAMP酶组成。根据G蛋白的性质,可划分成抑制型G蛋白(G_i)和激活型G蛋白(G_s)。当激活型兴奋剂

结合受体后,通过G_s的偶联激活cAMP酶,由此提高cAMP——第二信使的生成量;而抑制性兴奋剂结合受体后,通过G_i的偶联作用抑制cAMP酶的活性^[22]。百日咳毒素和霍乱毒素能分别专一地催化G_i与G_s共价结合ADP-核糖基的反应,其结果是:抑制性兴奋剂对cAMP形成的抑制作用明显降低或消失;激活型兴奋剂加强cAMP酶的激活作用。这两种毒素也可以用来检测G蛋白的存在与否,以及鉴定G蛋白的类型。

G蛋白还参与了受体兴奋剂与PIP₂磷酸二酯酶之间的偶联^[22,23]。用百日咳毒素预先处理人类嗜中性白细胞后,由兴奋剂所促进的PIP₂水解及其生物学效应全部受到抑制^[25,24],这直接与G_i的ADP-核糖基化有关^[24]。虽然两套转换系统都有G_i,可是百日咳毒素的处理并不增加或改变cAMP水平^[24]。对此可能的解释是:某些兴奋剂在促进PIP₂水解的同时,即使可能改变cAMP酶的活性,但由于兴奋剂的作用并非通过G_i偶联途径实现的,故ADP-核糖基化后的G_i就不能改变cAMP的水平。但也不能排除G_i具有不同功能的亚型。

PIP₂的水解伴随着cAMP水平的下降^[21,26],这暗示了两者之间可能存在着一定的协调反应。事实上,如果cAMP水平生理性地上升,PIP₂的水解也确实受到抑制^[12],这可能是因为PIP₂磷酸二酯酶被磷酸化而失活。PKC虽然不能直接改变cAMP的水平,但是却能使G_s磷酸化,从而加强G_s与cAMP酶的偶联^[27],促进异丙基肾上腺素对cAMP酶的激活作用^[27,28]。根据上述观察的结果,似乎可以认为cAMP具有拮抗双信使途径的功能,即加强了后继的细胞外信号对PIP₂水解引起的靶细胞应答反应所进行的调控过程(抑制作用)。

无疑,进一步探讨cAMP和双信使之间的关系,具有重要的生物学意义。它不仅可以加深我们对第二信使的理解,而且还能揭示转换机制的本质,以及转换系统内部和转换系统之

间可能存在的内在统一性问题。倘欲了解该问题就应倍加重视对G蛋白的研究,其原因在于: 1) G蛋白,包括G_i,为上述两个信号转换系统都具备的成分。但是,是否是两者公用的成分呢?不论是肯定或否定的回答,都将导出更深刻的问题。2) G蛋白不仅与cAMP酶和PIP₂磷酸二酯酶偶联,而且还能直接影响受体与兴奋剂的亲和力的大小;而同一兴奋剂,或与高亲和状态的受体结合,或与低亲和状态的受体结合,决定了它参与哪一个转换系统,以及诱导出什么样的应答反应^[21]。此外,质膜PIP₂的水解能否在影响质膜理化性质基础上,改变质膜的cAMP酶的活力,也是一个值得探讨的问题。显然,进一步开拓该领域的研究,将一定有许多振奋人心的发现。

结 束 语

质膜的肌醇脂质参与了细胞外信号的转换过程。外源的兴奋剂结合靶细胞的受体后,具有促进靶细胞质膜肌醇脂质代谢的作用。其中PIP₂的水解产物——IP₃和DG——分别是提高细胞内[Ca²⁺]_i与激活PKC的第二信使。该双信使通过Ca²⁺(或钙调素)和PKC两条相对独立而又相互协调的途径,参与各种靶细胞的应答反应。IP₃和DG与其它第二信使,如cAMP在靶细胞的应答反应过程中似乎存在着密切的拮抗作用,说明了两个信号转换系统之间很可能存在着某种内在的统一性联系。

参 考 文 献

- [1] Michell, R. H., 1975, *Biochem. Biophys. Acta*, 415: 81—147.
 [2] Hokin, M. R. and L. E. Hokin, 1953, *J. Biol. Chem.*, 203: 967—977.
 [3] Berridge, M. J., 1984, *Nature*, 312: 314—321.
 [4] Berridge, M. J., 1984, *Mol. Cell. Endoc-*

rinol., 37: 37—42.

- [5] Downes, C. P. and M. W. Wusteman, 1983, *Biochem. J.*, 216: 633—640.
 [6] Orcn, Y., 1985, *Nature*, 313: 140—143.
 [7] Farese, R. V., 1984, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 35: 1—4.
 [8] Biden, T. J. et al., 1984, *Biochem. J.*, 233: 467—473.
 [9] Brown, J. E., 1984, *Nature*, 311: 160—162.
 [10] Volpe, P. et al., 1985, *Nature*, 316: 347—349.
 [11] Dawson, A. P. et al., 1985, *FEBS Lett.*, 185: 147—150.
 [12] Nishizuka, Y., 1984, *TIBS.*, 9: 163—166.
 [13] Kirota, K. et al., 1985, *J. Biol. Chem.*, 260: 3242—3246.
 [14] Nishizuka, Y., 1984, *Nature*, 308: 693—698.
 [15] Berridge, M. J., 1984, *Biochem. J.*, 216: 633—640.
 [16] Roch, P. J. and M. Goldman, 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.*, 80: 7170—7172.
 [17] Delkeke, D. et al., 1984, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 123: 735—741.
 [18] Manaco, R. H., 1982, *J. Biol. Chem.*, 257: 2137—2139.
 [19] Labarca, R. et al., 1984, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 123: 703—709.
 [20] Easebi, F. et al., 1985, *J. Cell Biol.*, 100: 1339—1342.
 [21] Brown, J. H. and S. L. Brown, 1984, *J. Biol. Chem.*, 259: 3777—3781.
 [22] Gilman, A., 1984, *Cell*, 36: 527—531.
 [23] Cockcraft, S. and B. D. Gomperts, 1985, *Nature*, 314: 534—536.
 [24] Bokoch, G. M. and A. G. Gilman, 1984, *Cell*, 39: 301—308.
 [25] Lad, P. M., et al., 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.*, 82: 869—873.
 [26] Orellana, S. A. and J. H. Brown, 1984, *Biochem. pharmacol.*, 34: 1321—1324.
 [27] Bell, J. D. et al., 1985, *J. Biol. Chem.*, 260: 2625—2628.
 [28] Sugden, D. et al., 1985, *Nature*, 314: 359—361.