

# 神经节苷脂在神经组织中的功能和作用机理

吴谷盛\*

(中国科学院上海脑研究所)

神经节苷脂(Ganglioside)(下称节苷脂)是含有唾液酸的一类膜糖脂的总称。它最早被发现于本世纪三十年代,十五年后Folchpi又从细胞膜中分离得到,但只认为它是膜的普通结构成分,六十年代以后,才引起越来越多的神经生物学家的重视,成为涉及神经生化、细胞、药理、生理、发育等许多专业的热门课题之一。迄今为止,对节苷脂的分子结构、分类、理化性质已经研究得比较明确,但对它的生物学功能却仍然了解甚微。节苷脂之所以引人注目,至少有以下三个原因<sup>[1]</sup>:1)节苷脂虽然存在于动物的几乎所有组织中,但在脑细胞膜中含量特别丰富,其种类和分布也更为复杂;2)某些遗传性脂类代谢症(如黑朦性痴呆)患者的皮层锥体细胞中积累了大量的节苷脂,形成巨神经突,严重影响神经系统的功能;3)某些神经毒素(如破伤风毒素、霍乱毒素)与脑细胞专一地结合和某些节苷脂成分有关。这些都意味

着节苷脂在神经系统中可能具有非同一般的功能。

## 一、神经节苷脂的化学结构和分类

节苷脂分子包括疏水端和亲水端两大部分(图1)。疏水端为N-酰基鞘氨醇(ceramide),镶嵌在细胞膜脂双层的外层内;亲水端为寡糖链,伸展在细胞膜外,与周围环境接触。在节苷脂分子的寡糖链中,除了含有葡萄糖、半乳糖、N-乙酰半乳糖胺等残基外,还有一个或多个唾液酸(即神经氨酸)残基。

根据N-酰基鞘氨醇中的脂肪酸的长短,寡糖链中糖残基的种类和排列方式,Svennerholm<sup>[1]</sup>将已经阐明的四十余种节苷脂进行了分类和命名,图2为其中几例。

## 二、神经节苷脂在神经组织中的分布

节苷脂在哺乳动物中枢神经系统中含量丰

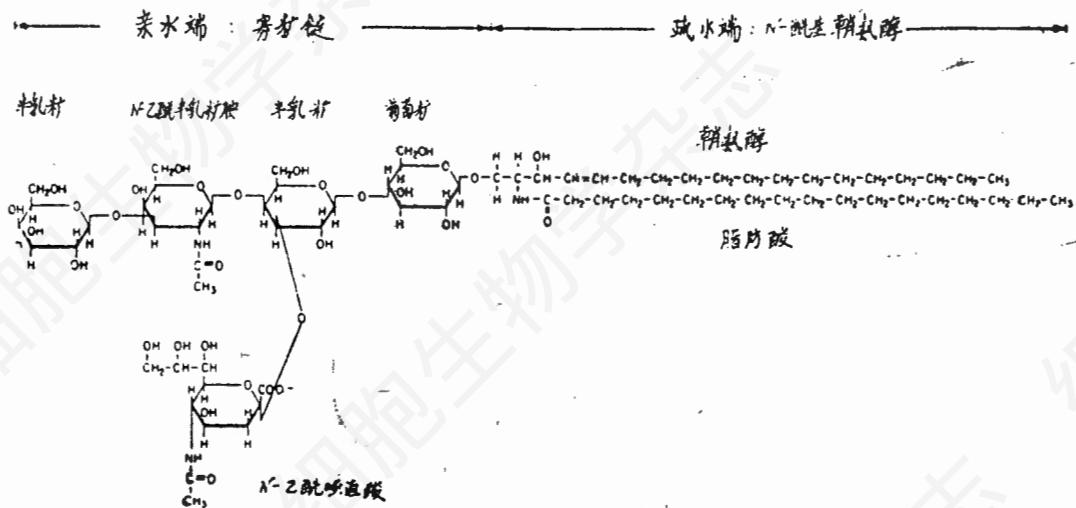


图1  $G_{M1}$  的结构 (根据 Rapport, M.M. 1981)

\* 现在地址: 中国科学院上海生理研究所。

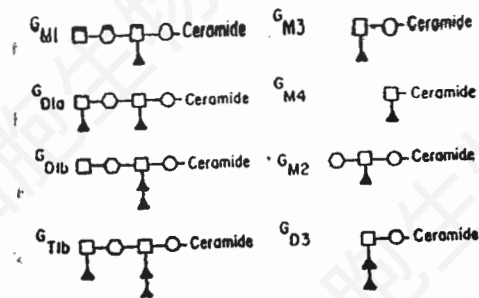


图2 8种节苷脂的化学结构。哺乳动物脑中四种主要成分为G<sub>M1</sub>G<sub>D1a</sub>G<sub>D1b</sub>和G<sub>T1b</sub>。根据Svennerholm命名法：M、D、T分别表示1、2、3个唾液酸残基。符号：□半乳糖；○N-乙酰半乳糖胺；○葡萄糖；▲唾液酸；Ceramide N-酰基鞘氨醇。（根据Rapport, M. M. 1981）

富，成分复杂。据估计，在哺乳动物的大脑中，每克新鲜的灰质或白质中所含节苷脂量以水解后产生的唾液酸计分别为3000—3500 nmol和1000—1250 nmol，大大高于其它组织（肝50—100 nmol，皮肤30—35 nmol）<sup>[1]</sup>。中枢神经系统灰质的节苷脂以G<sub>M1</sub>、G<sub>D1a</sub>、G<sub>T1</sub>和G<sub>D1b</sub>为主，其次是G<sub>M2</sub>、G<sub>D3</sub><sup>[3]</sup>，在白质髓鞘以G<sub>M4</sub>、G<sub>M1</sub>为主<sup>[4]</sup>。在不同种的动物脑中，或同一动物的不同脑区，节苷脂浓度差异很大<sup>[5]</sup>。

生化分析和细胞化学方法<sup>[6-9]</sup>都证明节苷脂主要分布在细胞膜的外层；细胞表面节苷脂的含量和成分与细胞周期相匹配（参见文献1）。在许多细胞中，不管节苷脂含量如何随细胞周期变化，其在细胞表面的分布总趋于均匀，但神经细胞作为高度分化的细胞，节苷脂在其表面的分布不均一，在胞体上的含量稍低于平均水平，而在突触小体中的含量则高于平均水平，就单个节苷脂成分而言，G<sub>T1</sub>、G<sub>D1b</sub>以及G<sub>M1</sub>集中在突触前后膜。在树突上，也以G<sub>D1b</sub>、G<sub>T1</sub>等为多<sup>[6,10]</sup>。

### 三、神经节苷脂在神经系统中的功能

1. 神经节苷脂促进脑的发育 在哺乳动物的脑的发育过程中，节苷脂总量的增加和各单一节苷脂成分间的配比都与神经组织形态发生相平行，大致可以划分下列三个阶段<sup>[11]</sup>：

第一阶段为神经母细胞和神经胶质母细胞分裂增殖阶段，神经元分化尚未发生，此时节苷脂总量增加很少，成分先以G<sub>D3</sub>为主，继后以G<sub>M1</sub>、G<sub>T1</sub>、G<sub>Q1</sub>取代G<sub>D3</sub>，而G<sub>D1a</sub>逐渐增加。第二阶段为神经元分化成熟阶段，神经元轴突、树突以及侧棘大量迅速形成，突触联系初步建立，同时神经母细胞继续分裂，并分化成小神经元。胶质细胞仍处于分裂分化之中。此阶段亦称生长激增期(growth spurt)，此时节苷脂总量在短时期内可增加3—4倍，形成节苷脂合成的第一次快速增长相，其中G<sub>D1a</sub>的比例达到最高值。G<sub>M1</sub>、G<sub>T1</sub>所占比例下降。第三阶段，神经元间的联系进一步扩增，少突胶质细胞分化形成髓鞘，出现第二次节苷脂快速增长相，在此以后，节苷脂的增加趋于缓慢。此时，G<sub>D1a</sub>仍占很大比例，G<sub>M1</sub>有所增加。人脑皮层的第一次快速增长相以胚胎25周开始到出生为止，第二次快速增长相从出生到生后第二周。大鼠、小鼠、兔、猪等的快速增长相一般到生后才出现。在发育成熟的机体内，节苷脂的含量和成分基本稳定。随着脑的衰老的发生，神经元数量减少，突触退化，节苷脂的含量也逐渐下降<sup>[12]</sup>。

根据上述资料，大致可以推测：G<sub>D3</sub>有利于细胞的分裂增殖，G<sub>M1</sub>有促进神经元萌发突起的作用；G<sub>T1</sub>、G<sub>D1a</sub>、G<sub>Q1</sub>等参与神经细胞间的识别和突触联系的建立，这些多唾液酸节苷脂的出现是神经元成熟的膜标志。

为证明节苷脂的这些功能，体外培养的神经元提供了可靠的模型，实验证明在体外培养的神经元分化成熟的过程中，其质膜表面的各种节苷脂的表达时相与体内基本相同；培液中的外源性节苷脂可以非选择性地嵌入细胞膜，象内源者一样发挥作用。Hauw等人在培液中加入牛脑节苷脂(0.5 ng—50 ng/ml)，结果使培养的豚鼠脊神经节细胞萌发的突起比对照组增加60%。Roison和Dimpfel也发现外源性节苷脂可使培养的大鼠神经母细胞瘤细胞突起数量大大增加，在一定范围内，突起的数量和节

苷脂剂量成正比。在各种节苷脂中,  $G_{M1}$  和  $G_{T1}$  对突起生长的促进作用最大<sup>[1]</sup>。

**2. 神经节苷脂参与突触传递** 突触为神经细胞间传递信息的特殊结构。突触膜上浓集了  $G_{M1}$ 、 $G_{D1b}$ 、 $G_{T1}$  等。体外实验证明节苷脂与  $Ca^{++}$  有很强的结合力, 但节苷脂- $Ca^{++}$  聚合物有明显的热不稳定性。节苷脂的多唾液酸化, 则有利于降低这种不稳定性, *Svennerholm* 认为<sup>[3]</sup>, 稳定的节苷脂- $Ca^{++}$  聚合物有利于突触间的信息传递: 当冲动到达时, 突触前膜的节苷脂释放与其相结合的  $Ca^{++}$ ,  $Ca^{++}$  经专一的膜通道进入胞内, 进而触发一系列细胞活动, 导致递质释放。递质释放后, 节苷脂的负电性虽然已被胞内释放的  $Na^+$  部分地中和, 但仍带有较强的负电性, 有利于带正电荷的递质的重吸收。

在单胺类递质系统中, 有人曾提出节苷脂可能是 5-羟色胺(5-HT)的受体, 证据为 5-HT 能与 N-乙酰唾液酸残基专一地结合, 而节苷脂正是含有这种残基的突触后膜结构之一, 但最新资料表明: 5-HT 的受体是一种蛋白质。节苷脂尤其是  $G_{Q1}$  可使 5-HT 与其受体的亲和力增加 10 倍<sup>[5]</sup>。Tamis 通过对突触前囊泡的研究, 发现节苷脂可与囊泡中的 5-HT 结合蛋白结合, 参与递质在突触小泡中的装配和释放。此外节苷脂还可能激活色氨酸羟化酶, 从而增加 5-HT 的合成。实验可证明节苷脂可促进多巴、去甲肾上腺素的释放<sup>[1,2]</sup>。

在胆碱能递质系统中, 节苷脂可促进乙酰胆碱的释放, 加速胆碱的摄取, 提高乙酰胆碱脂酶的活动<sup>[1,14]</sup>。

### 3. 神经节苷脂在脑的高级功能中的作用

简单的物理刺激可引起动物脑中节苷脂含量的改变, 例如牛眼视网膜视杆细胞外段的节苷脂含量在光刺激后可增加 40%, 意味着节苷脂参与脑的一般生理活动。

*Irwin* 和 *Samson* 观察到<sup>[2]</sup>, 若强迫大鼠在深水槽内游泳, 会使脑中  $G_{T1}$  增加, 而  $G_{D1b}$  减少。*Savaki* 等人<sup>[2]</sup>也观察到, 逃避训练会改

变鼠脑节苷脂成分的配比。这类现象表明在脑的高级神经活动中可能有节苷脂参与。如设法“封闭”这些分子, 势必影响脑的高级功能。在大鼠感觉运动皮层中注入能与节苷脂  $G_{M1}$  专一结合的配基(抗  $G_{M1}$  抗体, 霍乱毒素或无毒性的霍乱毒素 B 亚基), 可扰乱正常脑电活动, 诱发产生癫痫样波形, 并引起动物发作癫痫。抗节苷脂抗体还选择性地干扰大鼠的学习、记忆和其它行为活动, 如延迟被迫回避学习, 抑制吗啡镇痛、阻断利血平镇静。最近的研究表明, 皮下注射节苷脂混合物或  $G_{M1}$  或  $G_{D1b}$  可明显地促进新生大鼠的行为学习的获得性和记忆力, 更令人信服地证明了节苷脂可促进脑的高级功能<sup>[15]</sup>。

**4. 神经节苷脂促进神经再生** 神经再生的实质是遭受损伤的神经细胞形成新的突起, 并与靶细胞重建突触联系。节苷脂促进实验动物神经再生的报道最早见于 1975 年, *Ceccarelli* 等人<sup>[16]</sup>在切断支配猫瞬膜的交感神经后, 用节苷脂进行治疗, 发现无论是肾上腺素能神经还是胆碱能神经都大幅度地提高了神经再生水平和对瞬膜肌的再支配能力。*Gorio* 等人<sup>[17]</sup>也证明, 外源节苷脂可加速大鼠坐骨神经的再生和对趾伸长肌的再支配。他们注意到: 节苷脂仅使神经再生过程中固有的多重神经支配的现象的时相提早, 但神经纤维的数量无明显增减, 说明节苷脂只是促进了一种本来就存在的生理活动。此现象也存在于中枢神经系统, *Oderfeld* 和 *Wójcik* 等<sup>[1,14]</sup>观察到, 如果切断大鼠隔区和海马的神经联系, 然后给动物注射节苷脂, 50 天以后海马中乙酰胆碱脂酶和胆碱乙酰转移酶的活力可恢复到手术前的 70%~80%, 比对照组增加 30%。最近实验还证明节苷脂  $G_{M1}$  对单侧半横切的大鼠黑质纹状体的多巴能神经联系的恢复也有促进作用, 免疫细胞化学方法显示  $G_{M1}$  减轻了由于损伤而引起的多巴能递质合成酶——酪氨酸羟化酶的活力的下降<sup>[18]</sup>。以上证据提示外源性节苷脂嵌入神经细胞膜后, 可能增加了神经细胞和营养因

子、激素等生物活性物质的结合机会,并通过某种机理调节细胞固有的再生活动,促进细胞膜的合成<sup>[19]</sup>,加速细胞骨架的装配<sup>[20]</sup>,提高与递质代谢相关的酶的活力<sup>[21]</sup>,从而促进突起复萌,突触重建,最终恢复突触传递。

#### 四、神经节苷脂作用机理的探讨

**1. 改变膜的物理性质** 节苷脂分子带有较多的负电荷,由于同性电荷互相排斥,它们在质膜中的分布密度受到限制,同时也增加了膜的流动性和通透性。Cumar等人<sup>[2]</sup>发现在含有多巴递质的突触小体制品中加入节苷脂后即可引起递质的释放,这是因为外源节苷脂插入细胞膜后增加了膜的流动性,从而促进了突触小泡和突触膜的融合,导致递质释放。

节苷脂的存在大大地增加了细胞表面的负电性,也提高了细胞和带正电的递质(多巴,5-HT等)以及金属离子(如 $Ca^{++}$ 、 $K^{+}$ 等)的结合能力。尤其是 $Ca^{++}$ 和唾液酸有很强的螯合作用,这一方面为神经细胞的信息传递活动聚集了足够的 $Ca^{++}$ ,如前所述(见9页);另一方面双价 $Ca^{++}$ 可同时与两个分子结合,强化了节苷脂分子之间、节苷脂和负电性糖蛋白之间的联系,从而改变这些分子的构象,有利于其功能的发挥。

**2. 细胞膜表面受体** 前述各节无不与节苷脂的受体性质有关,许多实验也证实了这一性质。到目前为止,最为肯定的是:节苷脂可作为霍乱毒素(CT)的受体<sup>[7-12]</sup>,其次是破伤风毒素<sup>[8,9]</sup>、肉毒毒素、糖蛋白激素以及干扰素<sup>[1]</sup>的受体。下面以CT为例说明节苷脂的受体功能。

至少有如下证据可以说明 $G_{M1}$ 是CT的唯一受体:CT可与 $G_{M1}$ 专一地结合,结合的多少与细胞表面的 $G_{M1}$ 量直接相关,外源 $G_{M1}$ 嵌入细胞膜后或用唾液酸酶将细胞膜上的 $G_{D1}$ 、 $G_{T1}$ 等降解为 $G_{M1}$ ,均可增加CT的结合量;预先用外源 $G_{M1}$ 吸附过的CT丧失与细胞的结合能力;抗节苷脂抗体可阻断CT与 $G_{M1}$ 的结

合。

CT与 $G_{M1}$ 结合后,可激活胞内腺苷酸环化酶,增加cAMP的浓度。Fishman<sup>[7]</sup>认为CT的这种作用代表了节苷脂 $G_{M1}$ 介导的信息跨膜运输的一般机理,体内的营养因子对神经细胞的作用也可能与此相似。此外,CT与 $G_{M1}$ 结合后,可引起细胞膜运动,使 $G_{M1}$ 重新分布,形成块状或帽状结构,这种运动可被细胞松弛素或秋水仙素阻断,说明它与细胞骨架系统有关。然而,Gonatas等<sup>[24]</sup>以及吴谷盛等观察到CT与培养的神细胞膜上的 $G_{M1}$ 结合后,并不引起帽化现象,而可诱发细胞对CT的内吞,包涵CT- $G_{M1}$ 复合物的内吞小泡汇聚在与细胞膜循环有关的GERL区(Golgi apparatus-Endoplasmic Reticulum-Lysosome),Gonatas称此现象为受体介导的细胞内吞(receptor mediated endocytosis, RME)。RME的生理意义至今仍不十分清楚,Pastan<sup>[26]</sup>认为,在正常生理状态下,细胞通过RME调节表面受体的数量,对某些能与膜受体专一结合的体内因子和激素作相应的反应;其次内吞小泡到达GERL区,可能是传递这些生长因子和激素所携带的信息的另一条途径。

除了直接充当专一性受体之外,节苷脂还可能是某些因子的“非特异性受体”。凭借糖链上的负电荷,节苷脂可吸引某些因子(如神经生长因子),增加它们的局部浓度,并将它们转移给特异性受体。

**3. 第二信使系统酶活力的调制物** 无论体内实验还是体外实验均证明,节苷脂本身可直接调节酶的活力。Daly<sup>[21]</sup>发现,高浓度的外源节苷脂可激活大脑皮层中与膜结合的腺苷酸环化酶,而低浓度的外源节苷脂却可激活胞浆内3',5'-环核苷酸二脂酶。他认为节苷脂可能象钙调蛋白一样兼司两职,轮流激活这两种酶,调控cAMP的合成和降解,使之维持在一定水平,以满足细胞活动所需,正如Dimpfel<sup>[1]</sup>的实验所示,在培养的神经元中加入节苷脂,在神经突起大量萌发之前,就可测得胞内

cAMP 迅速增加。此外,外源节苷脂可增加胞内  $K^+$ 、 $Na^+$ -ATP 酶的活力<sup>[1]</sup>。

节苷脂的作用机理可用图 3 概括。节苷脂在改变膜的物理性质的同时,可充当受体去接受胞外分子提供的信息,控制胞内第二信使水平,调节细胞内微环境,从而有效地促进细胞活动。外源节苷脂嵌入细胞膜后,提高了节苷脂分布的密度,既可作为受体增加细胞和营养因子结合的机会,以捕捉更多的胞外信息,又可作为酶活力的调制物去增加细胞激活第二信使系统酶的能力,或者作为神经营养因子的载体促进 RME。

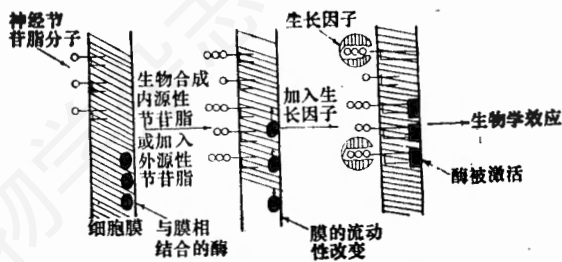


图 3 神经节苷脂的作用机理 (根据 Seifert, W. 重绘, 参见 Rapport, M.M. 1981 pp.99)

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Rapport, M. M., 1981, in "Ganglioside in neurological and neuromuscular function, development and repair" Raven Press, New York.
- [ 2 ] Wiegandt, H., 1982, in "Advance in neurochemistry" Edited by Agranoff, B. W., & Aprison, M. H., 149—223. Plenum Press, New York.
- [ 3 ] Svennerholm, L., 1980, *Adv. Exp. Med. Bio.*, 125: 533—543.
- [ 4 ] Ando, S., et al., 1978, *Anal. Biochem.*, 89: 437—450.
- [ 5 ] Ledeen, R. W., et al., 1984, "Ganglioside, structure, function and biomedical potential" Plenum Press, New York.
- [ 6 ] Lacv, H., et al., 1978, *Brain Res.*, 157: 136—142.
- [ 7 ] Fishman, P. H., 1982, *J. Membrane Biol.*, 69: 85—97.
- [ 8 ] Koulakoff, A., et al., 1982, *Dev. Brain Res.*, 5: 139—147.
- [ 9 ] Yavin, E., et al., 1982, *J. Neurosci. Res.*, 7: 267—278.
- [ 10 ] Roger, T. B., & Snyder, S. N., 1981, *J. Biol. Chem.*, 256: 2402—2407.
- [ 11 ] Irwin, S., et al., 1980, *J. Neurochem.*, 34: 1527—1530.
- [ 12 ] Rahmann, H., 1980, in "Aging of brain and dementia, V. 13" Edited by Amaducci, L., et al., 75—79. Raven Press. New York.
- [ 13 ] Seyfreit, T. N., et al., 1982, *J. Neurochem.*, 38: 551—559.
- [ 14 ] Wöjick, M., et al., 1982, *Neurosci.*, 7: 495—499.
- [ 15 ] Karpiak, S. E., et al., 1984, *Neurosci.*, 6: 127—135.
- [ 16 ] Ceccarelli, B., et al., 1975, *Adv. Exp. Med. Bio.*, 71: 275—293.
- [ 17 ] Gorio, A., et al., 1980, *Brain Res.*, 197: 236—241.
- [ 18 ] Toffano, G., et al., 1984, *Brain Res.*, 296: 233—239.
- [ 19 ] Purpura, D. P., et al., 1977, *Brain Res.*, 143: 1—12.
- [ 20 ] Spepo, D. A., et al., 1984, *Dev. Brain Res.*, 13: 37—48.
- [ 21 ] Davis, C. W., et al., 1980, *Molec. Pharmacol.*, 17: 206—211.
- [ 22 ] Van Heyningen, S., 1983, in "Current topic in membrane and transport, V. 18." Edited by Kleinzeller, A., et al., 445—471. Academic Press. New York.
- [ 23 ] Craig, H., et al., 1976, *Immunol. Commun.*, 5: 587—600.
- [ 24 ] Gonatas, A., et al., 1981, in "Receptor-mediated binding and internalization of toxin and hormones" Edited by Middlebrook, J. L., & Khon, L. D., 123—135. Academic Press, New York.
- [ 25 ] Pastan, I. H., et al., 1981, *Science*, 214: 504—510.