

综述与专论

细胞质膜微囊与信号转导

黄 芬

(中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101)

摘要 细胞质膜微囊 (caveolae) 为 50~100 nm 的小囊泡, 它们以内陷形式连接在细胞质膜上, 并广泛存在于各种类型的细胞。早在 40 多年前用透射电镜曾观察到此微囊结构。细胞质膜微囊的功能为通过毛细管内皮细胞转运小分子及大分子以及具有“液饮”作用。最近实验表明, Caveolae 还参与跨膜信号转导。

关键词 细胞质膜微囊, 微囊蛋白, G-蛋白偶联的受体, 信号转导

信息传递是细胞的重要生理功能之一, 它与生物膜密切相关。细胞产生的各种信号分子通过与其专一性受体相互作用, 最终产生生物效应。而信号是如何进行转导的? 是近年来细胞生物学研究十分活跃的领域。这种信号转导过程主要是在生物膜上进行, 因而信号转导在生物膜的什么部位, 一直是大家关注的问题。细胞质膜微囊 (caveolae) 的发现为研究信号转导提供了一个重要线索。

1 Caveolae 的发现

Caveolae 为 50~100 nm 的小囊泡, 可称为细胞质膜微囊。它们在细胞质膜上形成一个微区, 并广泛存在于各种类型的细胞中, 而在内皮细胞, 平滑肌细胞以及成纤维细胞质膜上尤为丰富。早在 41 年前日本学者 Yamada^[1] 采用透射电子显微镜首次观察到细胞质膜上存在着一些小囊泡, 直径约为 50 nm, 但对其功能并不了解。直到 1968 年美国生物学家 Palade^[2] 从血管内皮细胞中鉴定出 caveolae 的存在, 因而认为它们可能起着运输细胞中某些分子的作用。当时由于技术条件的限制, 仅采用电镜观察 caveolae 的形态结构, 不能说明 caveolae 的生理功能。90 年代初期, 美国学者 Anderson^[3] 从电镜上再次观察到 caveolae 的形态结构, 他们发现在细胞质膜上, 每个 caveo-

lae 具有纤维状条纹。在膜上为内陷或为不内陷形状, 有时许多 caveolae 连接成串, 直径约为 50 nm。Anderson 认为细胞中许多信号可能通过 caveolae 这个微区进行转导。我们实验室从小鼠肺细胞质膜上也观察到 caveolae 的结构 (图 1)。

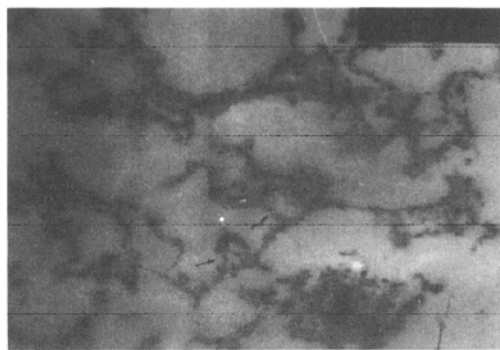


图 1 小鼠肺细胞质膜电子显微镜超薄切片照片
箭头所示为 caveolae ($\times 33\,000$)。

2 Caveolae 的生理功能

已有研究表明, Caveolae 参与大分子或小分子物质在细胞中的跨膜运送。Anderson^[4] 实验室还提出“液饮”作用。所谓“液饮”即

收稿日期: 1996-12-20, 修回日期: 1997-02-21

caveolae 与膜上糖基磷脂酰肌醇 (GPI) - 锚蛋白相结合, 摄入小分子物质. 例如, 有一种 GPI-锚蛋白具有叶酸受体的功能, 它能在 caveolae 内摄入叶酸. GPI-锚蛋白是一类含脂的膜蛋白, 它的 C 端与糖脂相连, 糖脂中糖磷脂为糖基磷脂酰肌醇, 其两条脂酰链插入脂双层内, 因而称为“锚”. GPI-锚蛋白有几十种, 功能多样. 它在 caveolae 上形成串, 除其中一种为叶酸受体外, 还具有激素作用, 并能活化淋巴细胞.

Caveolae 还有浓缩各种大分子的能力. 日本学者 Fujimoto^[5, 6] 用抗体标记被培养的细胞来鉴定 caveolae 浓缩蛋白质的作用, 他们在 caveolae 中发现两种含量很高的蛋白质, 即 Ca^{2+} -ATP 酶和肌醇三磷酸受体 (IP_3R), 二者作用为在细胞中转运 Ca^{2+} , 并调节胞质中 Ca^{2+} 的浓度. Travis 等^[7] 发现 caveolae 内蛋白质的浓度比整个细胞中的浓度高 160 倍. 例如, Caveolae 浓缩 G-蛋白亚基的能力可以比整个细胞高 25 倍至 175 倍. 综合各方面的实验结果, 不少人认为, Caveolae 具有内吞、液饮以及转运细胞中分子的作用.

3 Caveolae 与信号分子

Caveolae 的发现引起不少人的重视. Lisanti 等^[8] 认为 caveolae 是信号转导的主要位点, 它们把激素、生长因子以及胞外调节分子所带的信号进入细胞. 而细胞表面大部分的受体可能均在 caveolae 上. 形态研究示出, 某些与 G-蛋白偶联的受体, 如, β 肾上腺素能受体、M-乙酰胆碱受体、G-蛋白修饰的细菌毒素 (choleva)、胰岛素受体、 IP_3 受体以及腺苷酸环化酶都在 caveolae 上. 此后, 有人还不断发现在 caveolae 上还存在 GPI-锚激素受体、蛋白激酶 C、脂质第二信使分子, 如鞘磷脂和神经节苷脂、高度不均一的三聚体 G-蛋白、非受体酪氨酸激酶、白蛋白、CD36、质膜 Porin、Src-like 激酶等等. Sargiacomo 等^[9] 从狗肾上皮细胞 (MDCK) 中获 caveolae, 其中含有胆固醇、糖基鞘磷脂、GPI-锚蛋白以及微

囊蛋白 (caveolin), 同时还发现有各种蛋白质分子, 如 G-蛋白、膜联蛋白 (annexin II)、Src-like 激酶等等. Nigram 等曾发现内皮组织, 如肝、胰的亚细胞组分, 其质膜上存在 IP_3R , 并证明 IP_3R 位于 caveolae 上. 最近 Bush 等^[10] 又从 MDCK 细胞的 Triton X-100 的不溶物中分离出 caveolae, 免疫印迹法与免疫沉淀表明, IP_3R 在 caveolae 内, 同时还存在 caveolae 的标记蛋白 caveolin. 最近实验表明^[11], PKC- α 也存在于 caveolae 上, PKC- α 是内在蛋白, 它负责 caveolae 的内陷. 有两方面证据支持这种观点: 首先生化与形态学方法均示出 PKC- α 存在于 caveolae 上, 其次, Caveolae 内含有一个 PKC- α 的底物, 当 caveolae 内在化 (internalization) 循环时, 此底物可被磷酸化或去磷酸化. 若 caveolae 中缺失 PKC- α 时, 则 caveolae 内在化受到抑制. 因而有人认为 PKC- α 与蛋白磷酸酯酶可能是控制 caveolae 内在化的主要调节因子.

关于细胞外的信号是如何在 caveolae 内进行转导的, Lisanti 实验室用狗肾上皮细胞进行了实验. 他们采用非离子去污剂 Triton X-100 溶解细胞后, 获 Triton X-100 不溶物, 此不溶物为一复合物, 用电镜观察可看到 caveolae 的结构, 在 caveolae 中富含 GPI-锚蛋白和 caveolin, 此外还含有疏水的膜蛋白以及某些信号分子, 如 G-蛋白、膜联蛋白 (annexin II)、非受体型的蛋白酪氨酸激酶 (c-Yes) 以及一种未鉴定的具有丝氨酸激酶活性的蛋白质. Lisanti 提出一个模型, 即细胞外的信号先通过膜上的 GPI-锚蛋白进入 caveolae 的微区, 由于 GPI-锚蛋白的两条脂酰链插入膜脂双层外层, Caveolae 中的 caveolin 为一跨膜蛋白, 它能识别相应的 GPI-锚蛋白并与之相互作用, 同时, Caveolin 又能与 caveolae 中的 G-蛋白或酪氨酸激酶相互作用, 这样就可将细胞外的信息传入细胞内, 从而发生生理效应 (图 2). 而 caveolae 传递信号至今尚无直接实验证据.

综上所述, 初步说明 caveolae 可能是细胞信号转导的重要场所, 它们为信号分子提供了

上形成独立的结构域. 研究发现鞘磷脂在 caveolae 中含量可高达 27%, 其主要功能还不清楚. 表 1 为狗肾上皮细胞在 Triton X-100 中的溶物中磷脂组成^[14].

表 1 MDCK 细胞 Triton X-100 不溶物磷脂组成		
	占总磷脂 百分率/ %	占 Triton X-100 不溶物百分率/ %
鞘磷脂	6.2 ± 1.2	87.4 ± 5.5
磷脂酰肌醇	6.7 ± 1.5	13.0 ± 5.8
磷脂酰丝氨酸	5.7 ± 1.7	55.7 ± 24.7
磷脂酰胆碱	53.2 ± 8.7	12.2 ± 3.4
磷脂酰乙醇胺	28.1 ± 5.0	16.1 ± 6.0

4.3 胆固醇

胆固醇在 caveolae 中含量很高, 它对维持 caveolae 的形态结构也起重要作用. 在正常情况下, 内陷的 caveolae 上有一层纤维状排列的条纹, 若加入与胆固醇结合的药物, 如 filipin 或 nystatin, 形成胆固醇与药物的沉淀, 导致内陷的 caveolae 变成扁平状, 上面的条纹也消失, Caveolae 数量明显减少, 叶酸受体也丧失与膜结合的能力^[15].

关于 GPI- 锚蛋白是否也是 caveolae 组分之一, 过去曾有不同看法. 已有资料表明, GPI- 锚蛋白能优先进入 caveolae 内, 发挥其功能作用. 因此, 多数人认为 caveolae 是胆固醇、糖基鞘磷脂、鞘磷脂和 caveolin 自组装形成的微囊泡, 它们在质膜上不断更新, 大约每小时更新一次.

5 Caveolae 与疾病

Simionescu^[16] 曾发现高血脂症患者, 其内皮细胞中 caveolae 转运脂蛋白的作用增加, 在动脉粥样硬化时, 可能由于亚内皮细胞中低密度脂蛋白不断积累而导致病变. 糖尿病患者, 其血清中葡萄糖含量增加并加速糖基化产物 AGE's 的形成, 在亚内皮细胞中聚集, 它反映 caveolae 在内皮细胞不断转运 AGE's. 糖尿病

动物模型实验表明^[17], 在内皮细胞中 caveolae 无论大小和数量均增加, 而 AGE 的受体却位于内皮细胞质膜 caveolae 内, 因而说明糖尿病与 caveolae 有关系. Duchenné's 肌营养不良症患者, 其平滑肌细胞中 caveolae 形态发生变化^[18]. 还有人认为 caveolae 对细胞增生具有调节作用. 据报道^[19], 已转移的 NIH3T3 癌细胞, 其细胞质膜上 caveolae 的数量减少, 从而认为 caveolae 的丢失将影响细胞间的接触抑制, 导致细胞增生, 从而使细胞发生癌变.

6 展 望

Caveolae 的发现虽然已有 40 多年, 但对其结构与功能的研究现在只是刚刚开始, 特别是它们在信号转导的作用, 给予人们新的启示, 信号分子在生物膜上如何进行转导, 不再是抽象的概念. 预计在不久的将来会有新的突破. 它将推动细胞及分子生物学的发展进入一新的阶段. 有人评论: “这是一个崭新的领域, 人们正企图了解其结构与功能的关系, 在这个 40 多年前发现的小囊泡中, 蕴藏着宝贵的财富”.

参 考 文 献

- 1 Yamada E. The fine structure of the gall bladder epithelium of the mouse. *J Biophys Biochem Cyto*, 1955, **1** (2): 445 ~ 458
- 2 Palade G E. Structural modulation of plasmalemmal vesicles. *J Cell Biol*, 1968, **37** (3): 633~ 649
- 3 Anderson R G W. Molecular motors that shape endocytic membrane. In: Steer C J eds. *Intracellular trafficking of proteins*. Cambridge: Cambridge University Press, 1991, 13~ 46
- 4 Anderson R G W, Kamen B A, Rothberg K G *et al*. Potocytosis: Sequestration and transport of small molecules by caveolae. *Science*, 1992, **255** (5043): 410~ 411
- 5 Fujimoto T, Nakade S, Miyawaki K G *et al*. Localization of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor-like protein in plasmal caveolae. *J Cell Biol*, 1992, **119** (6): 1507~ 1513
- 6 Fujimoto T. Calcium pump of the plasma membrane is localized in caveolae. *J Cell Biol*, 1993, **120** (5): 1147~ 1157
- 7 Travis J. Cell biologists explore “tiny caves”. *Science*, 1993, **262** (5137): 1208~ 1209
- 8 Lisanti M P, Tang Z L, Scherer P E *et al*. Caveolae, transmembrane signalling and cellular transformation. *Mol Membr*

- Biol, 1995, **12** (1): 121~ 124
- 9 Sargiacomo M, Sudol M, Tang Z *et al.* Signal transducing molecules and glycosylphosphatidylinositol-linked proteins from a caveolin rich insoluble complex in MDCK cells. J Cell Biol, 1993, **122** (4): 789~ 807
- 10 Buch K T, Stuart R O, Li S H *et al.* Epithelial inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors. J Biol Chem, 1994, **269** (38): 23694~ 23699
- 11 Smart E J, Ying Y S, Anderson K G W *et al.* Hormonal regulation of caveolae internalization. J Cell Biol, 1995, **131** (4): 929~ 938
- 12 Rothberg K G, Heuser J E, Donzell W C *et al.* Caveolin, a protein component of caveolae membrane coats. Cell, 1992, **68** (4): 673~ 682
- 13 Scherer P E, Okamoto T, Chun M *et al.* Identification, sequence and expression of caveolin2 defines a caveolin gene family. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, **93** (1): 131~ 135
- 14 Zurzole C, Vant Hof W, Van Meer G V *et al.* VIP21/ caveolin, glycosphingolipid cluster and the sorting of GPI- anchored proteins in epithelial cells. EMBO J, 1994, **13** (1): 42~ 52
- 15 Rothberg K G, Ying Y S, Kamen B A *et al.* Cholesterol controls the clustering of the glycosphospholipid anchored membrane receptor for 5-methyltetrahydrofolate. J Cell Biol, 1990, **111** (6): 2931~ 2938
- 16 Simionescu N. Prelesional modifications of the vessel wall in hyperlipidemic arterogenesis. Extracellular accumulation of modified and reassembled lipoproteins. Ann N Y Acad Sci, 1990, **598** (Atherosclerosis 2): 1~ 16
- 17 Caldwell R B, Slapnick S M. Freeze fracture and lanthanum studies of the retinal microvasculature in diabetic rats. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1992, **33** (6): 1610~ 1619

- 18 North A B, Galazkiewicz T, Bayer J *et al.* Complementary distribution of vinculin and dystrophin define two distinct sarcolemma domains in smooth muscle. J Cell Biol, 1993, **120** (5): 1159~ 1167
- 19 Koleske A J, Baltimore D, Lisanti M P. Reduction of caveolae and caveolin in oncogenically transformed cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, **92** (5): 1381~ 1385

Plasmalemmal Vesicles (caveolae) and Signal Transduction. HUANG Fen (*National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*).

Abstract Caveolae are 50~ 100 nm membrane micro invaginations associated with the plasma membrane of a variety of cells. They were first identified in transmission electron micrographs 40 years ago. Functionally, caveolae are thought to participate in transcellular transport of both small and large molecules across capillary endothelial cells. In addition, caveolae have been postulated to function in potocytosis. More recently, there is growing evidence that caveolae also participate in transmembrane signal transduction.

Key words caveolae, caveolin, G-protein coupling receptor, signal transduction

催化性抗体及其研究进展*

胡昌勤

(中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

摘要 根据过渡态理论, 按特定的化学反应机制确定反应中的可能过渡态结构, 选择和该过渡态结构类似的化合物作为半抗原, 可诱导机体产生具有催化活性的催化性抗体。文章对诱导催化性抗体中半抗原的选择原则、催化性抗体和非催化性抗体间的联系、催化性抗体和酶促催化反应的比较等方面进行了较为全面的综述, 并对催化性抗体在医药科学中的应用前景及限制因素进行了讨论。

关键词 催化性抗体, 抗体, 酶, 过渡态类似物

抗体是机体经抗原刺激由免疫活性细胞产生的一组免疫球蛋白, 通常由两条相同的重链和两条相同的轻链所组成。抗体具有高度的特

* 国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1996-04-28, 修回日期: 1996-12-03