

肌醇磷脂在神经信息传递中的作用

李俊凤 吴奇久

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

提 要

本文概括了近年来肌醇磷脂的研究状况, 着重介绍了肌醇磷脂的代谢及其代谢产物 (IP_3) 和甘油二酯 (DG) 在信息传递中的作用, 阐述了肌醇磷脂与神经信息跨突触传递的关系。

一、绪 言

肌醇磷脂是组成细胞膜的重要成分, 绝大多数是非水溶性的, 只有极少一部分 (不足 1%) 是水溶性的。这极少一部分水溶性肌醇磷脂与脑和神经活动有着密切的关系。据今所知, 作为信息传递物质的 1, 4, 5-三磷酸肌醇 (IP_3) 母体的磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸 (phosphatidylinositol 4, 5-diphosphate, $PI(4, 5)P_2$) 就是这样一种特殊的水溶性磷脂。

自 1975 年 Michell 首先将肌醇磷脂作为神经信息传递的重要物质开始研究以来^[1], 这方面的研究得到了迅速发展, 并将研究的主要方面转移到了当时并未引起重视的三磷酸肌醇。近几年关于肌醇磷脂研究的综述不少, 但大多都侧重于揭示其代谢反应在各种细胞活动中的一致性, 涉及的范围比较广。本文打算仅从突触信息的传递来探讨肌醇磷脂的作用。因为从分子水平上探讨脑的机能时, 神经信息传递的分子机制是必须研究的关键问题之一。

二、肌醇磷脂的种类、代谢及代谢产物

1. 肌醇磷脂的种类及与其代谢有关的酶

肌醇磷脂现已知有三种, 1) 磷脂酰肌醇 (PI); 2) 二磷酸肌醇磷脂, 即在 PI 的肌醇环节 4 位上加了一个磷酸基, 也可称作磷脂酰肌醇

4-磷酸 ($PI(4)P$); 3) 三磷酸肌醇磷脂, 它是在肌醇环的第 4, 5 位上加了两个磷酸基, 也可称做磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸 ($PI(4, 5)P_2$)。后者又称多磷酸肌醇磷脂。多磷酸肌醇磷脂在脑中主要存在于神经元和胶质细胞膜上, 如果它们全部集中在细胞内表面, 其浓度可以达到 $mmol/L$ 数量级。

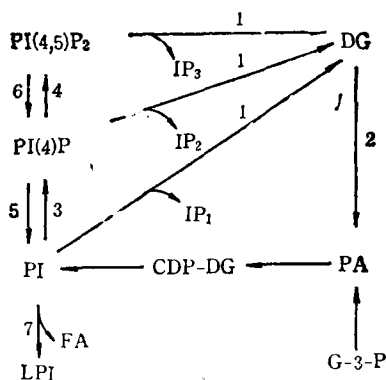


图 1 肌醇磷脂的代谢途径

G-3-P: 甘油三磷酸 PA: 磷脂酸 DG: 甘油二酯

FA: 脂肪酸 CDP-DG: 胞苷二磷酸甘油二酯

1: 磷脂酶 C 2: 甘油二酯激酶 3: PI 激酶 4: $PI(4)P$ 激酶 5: $PI(4)P$ 磷酸酶 6: $PI(4, 5)P_2$ 磷酸酶 7: 磷脂酶, LPI: 溶血磷脂酰肌醇

图 1 是肌醇磷脂的 $PI \rightarrow DG \rightarrow PA \rightarrow CDP-DG \rightarrow PI$ 循环通路, 即以前所谓的“ PI 的代谢通路”。刺激可以促进这种代谢的速率。 PI 最初由甘油三磷酸合成, 进而由激酶磷

酸化分别形成 $PI(4)P$ 和 $PI(4,5)P_2$ 。脑中的多磷酸肌醇和与其合成有关的激酶含量最多。 PI 的生物合成系统存在于内质网,活性 PI 激酶主要存在于细胞膜。而 $PI(4)P$ 激酶在膜和可溶性界面上都有,但脑中的此种酶可能主要存在于可溶性界面^[2]。

与刺激反应有关的最重要的分解酶是磷脂酶 C (phospholipase C, PLC), 该酶是把肌醇磷脂分解为甘油二酯和肌醇磷酸的酶类, 和其它激酶一样, 磷脂酶 C 也可从脑中分离、提纯。从 PLC 的作用来说, 它并不存在与前述的三种肌醇磷脂一一对应的、具有特异作用的三种类型。虽然某些 PLC 在分子量和免疫学性质或最适 pH、等电点等方面有所差别, 但它们对肌醇磷脂的作用都是相同的。

PLC 是不是一种膜结合性酶呢? 这在考虑受体来的信息时是关键的一环。过去一直认为 PLC 是一种可溶性酶, 前几年有人在突触体上和猩猩蝇头部的细胞膜上发现了膜结合性 PLC 的存在^[3], 但是关于可溶性的性质几乎没有什么研究。

关于 PLC 对 Ca^{2+} 的依赖性早已证明, 但到底 Ca^{2+} 的浓度多大才能保证 PLC 有最大活性, 目前尚未得到明确的结论。据目前一些报道看来, Ca^{2+} 的浓度从 10^{-3} — 10^{-7} 都可引起 PLC 的最大活性^[4], 这可能是由于基质的种类、基质的存在状态和盐浓度等条件不同引起的。 Ca^{2+} 的浓度对分析、确定磷脂分解引起细胞反应的原因及反应结果都是重要的, 今后应进一步进行研究。

其它的肌醇磷脂分解酶还有 $PI(4)P$ 和 $PI(4,5)P_2$ 单磷酸酶, 这种单磷酸酶只有 $PI(4)P$ 4 磷酸酶与 $PI(4,5)P_2$ 5 磷酸酶两种形式^[5]。这些酶类与 PI 激酶和 $PI(4)P$ 激酶共同控制着 $PI(4)P$ 与 $PI(4,5)P_2$ 的数量。另外, 磷脂酶 A (phospholipase A, PLA) 也是一种重要的酶, 它能从肌醇磷脂中分解出花生四烯酸 (arachidonic acid)。

2. 甘油二酯 (diglyceride, DG) 和磷酸肌醇

甘油二酯不仅是肌醇磷脂代谢的中间产物, 而且能激活蛋白激酶 C^[6], 是一种具有信息传递作用的物质。肌醇磷脂被 PLC 分解产生的 DG 有两条代谢途径, 一条是由脂肪酶去酰基分离出前列腺素前体二十烯酸, 而最重要的一条途径是由 DG 激酶磷酸化形成磷脂酸, 经 CDP-DG 再合成为 PI , 如图 1 所示。因此, 在 DG 的代谢中, DG 激酶是一种重要的酶类。DG 激酶在脑内含量很高, 在可溶性界面和膜界面上都见有活性, 其特点是易被镁激活而不被钙激活^[7]。当肌醇磷脂受到刺激变成 DG 与肌醇磷酸时, 被分解的原始基质 PI 、 $PI(4)P$ 和 $PI(4,5)P_2$ 分别变成 IP_1 、 IP_2 和 IP_3 , 其中的 IP_3 不但能激活某些酶类, 而且具有调动过去一直被认为是细胞内第二信使的 Ca^{2+} 的能力。因此, 在此过程中重要的一环是 $PI(4,5)P_2$ 的分解。根据实验中 IP_3 浓度上升先于 Ca^{2+} 浓度上升, 以及 $PI(4,5)P_2$ 的减少与 IP_3 的增加相对应的关系 (见表 1) 可以推断, 受体受激致活后产生的反

表 1 在受到刺激时单个细胞中聚磷酸肌醇代谢分子及有关分子浓度变化(以百分数计)

时间 (ms)	物质			
	相对含量	$PI(4,5)P_2$	PI	IP_3
0		100	100	0
50		49	100	20
100		8	100	46
150		0	99	98
200		6	95	99
250		17	87	93
300		24	75	90
350		32	68	85
400		41	38	81

注: 此表为文献综合结果。

应, 主要是由于 $PI(4,5)P_2$ 被 PLC 分解产生的 IP_3 引起了 Ca^{2+} 浓度的上升, Ca^{2+} 浓度的上升促使 PI 进行分解^[8]。为了使 Ca 游离, 细胞中产生的 IP_3 数量必须达到一定水平, 所以在反应开始时 Ca^{2+} 浓度上升较慢。在此过程中, 如果把 IP_3 作为第二信使, Ca^{2+} 便成了第三信使。

三、突触上的信息传递和肌醇磷脂

脑和肌醇磷脂的研究可追溯到拿破伦从莫斯科大退却的 1812 年。在这一年,法国科学家 Uouquelin 首次从脑中提出了磷脂。1954 年, Hokin 在脑切片上加乙酰胆碱时,发现肌醇磷脂的代谢加速了,在此基础上肌醇磷脂的研究逐渐发展起来。

1. 突触及突触信息传递

众所周知,神经系统是由无数个神经元细胞组成的,神经元和神经元的接触部称作突触。在突触部有大约为 100—200 Å 间隙,突触终末部的面积约为 $1\mu\text{m}^2$ 。当神经脉冲传到神经终末时,突触终末释放神经递质如图 2 所示。释放的神经递质向突触间隙排放,一旦与突触后膜的受体结合,突触后受体附近的离子通道开放,随之产生脉冲。

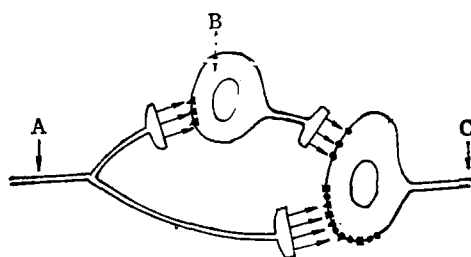


图 2 神经末梢的信息传递

→ 递质的流向; ●: 多巴胺受体; ▲: 毒蝇蕈碱性乙酰胆碱受体; ■: 尼古丁性受体; A: 节前纤维; B: 多巴胺释放型中间神经元; C: 节后纤维。

这样的信息变换和传递方式可归纳为这样一个过程,即电信号→化学信号→电信号。

突触间的信息交换和传递是极快的,快者可达 1 毫秒,慢者也不过数秒,这样快的传递速度以 IP_3 第二信使学说显然不能完全解释。

2. 神经终末处递质的释放和肌醇磷脂

按照生理学家们提出的设想,信息传递是按下列顺序完成的,即脉冲到达神经终末(去极化)→终末内部的 Ca^{2+} 被调动→突触小泡膜融合→递质释放。假设 IP_3 与突触传递有关,这个过程就是一个从 Ca^{2+} 调动到传递物质释放的过程。为了弄清这一点,学者们进行了大

量的实验。早在 1962 年 Gray 和 Whittaker 就开始了收集神经终末的生化实验。他们从脑组织匀浆获得了突触小体。1972 年, De Bellerocche 和 Bradford 仿照生理学家的传统做法在突触小体上加电刺激,确定了突触小体上传递物质的释放^[9]。Hawthorne 和 Bleasde 一起在豚鼠脑内突触小体上加电刺激发现,突触小泡内磷脂酸对 ^{32}P 的吸收量增加^[10],证明了肌醇磷脂的代谢受到了影响。剑桥大学的 Dawson 研究室认为 $\text{PI}(4, 5)\text{P}_2$ 对 Ca^{2+} 的高亲和性在脉冲传导中起着重要作用^[11]。脑机能的丧失主要是由于 $\text{PI}(4, 5)\text{P}_2$ 很快被分解、破坏引起的。

今天, IP_3 调动 Ca^{2+} 的理论越来越受到学术界的认可,人们正在从不同的角度对 $\text{PI}(4, 5)\text{P}_2$ 进行探索。不过,因为分解 $\text{PI}(4, 5)\text{P}_2$ 的酶 PLC 在 10^{-7}mol/L 的 Ca^{2+} 浓度下,由于膜的去极化而被致活,故这种理论的最后确立必须证明 PLC 是膜结合性的。关于电压性钙通道的存在已初步得到了证明^[12],但是在过去所说的膜融合中,充分的必须的钙量是否仅仅由钙通道提供的问题尚需进一步研究,也许 IP_3 的 Ca^{2+} 调动必须靠多方面的配合。

突触小泡和突触的膜融合有着密切的关系,最初有人提出了 PI 的分解产物 DG 能够促进突触小泡和突触的膜融合,即所谓的 DG 膜融合理论。现在一般认为,促使膜融合的主要分子是磷脂酶 $\text{A}_2(\text{PLA}_2)$ 。具有两条脂肪酸链的磷脂酰胆碱第二位上的一条被 PLA_2 切断,形成具有界面活性的溶血磷脂酰胆碱,引起膜的融合。最近关于膜融合理论又提出了一些新的证据。日本人 Nishizuka 认为,传递物质可以通过激酶 C 合成,因为与传递有关的酪氨酸羟基化酶可被 C 激酶磷酸化^[6]。有人还提出,在突触小泡上可能存在能被磷酸化的蛋白质,这些蛋白质的磷酸化、去磷酸化控制着膜的融合,这些新的证据为 DG 膜融合理论开拓了新的前景。

3. 突触后膜神经递质的感受

过去一直认为神经传递物质有两种,一种

是快速物质,接受这些物质之后到离子通道开启仅需一毫秒,在神经肌肉接合部的乙酰胆碱和中枢部的某些氨基酸、GABA等均属此类物质。另一种是慢作用物质,称神经调节剂,如儿茶酚胺、多巴胺、去甲肾上腺素、5-羟色胺、神经肽和交感神经素等均属此类物质,这些物质主要通过第二信使产生代谢反应。因此 IP_3 第二信使的理论主要是对慢传递机构(毒蝇蕈碱性感受器)而言,一般认为,它与快传递机构(尼古丁性感受器)没多大关系。但是最近的研究表明,大多数传递物质均起着双重作用(尼古丁性及毒蝇蕈碱性)。另外人们发现,第二信使环腺苷酸(cAMP)和 IP_3 是两个独立的系统,各自有不同的感受器,也有同种感受器使用两种信使的^[33]。到底 IP_3 起着怎样的特异作用,尚须进一步探讨。

4. 氨基酸刺激的早期反应和肌醇磷脂

作为中枢递质的氨基酸可分为兴奋性和抑制性两种。一般说来,像谷氨酰氨和天门冬氨酸盐等是兴奋性递质,它们都能促进环化鸟苷酸和肌醇磷酸的细胞内水平提高,而作为抑制性氨基酸的 GABA、亚牛磺酸等无传递作用的物质并不激活肌醇磷酸的形成。但氨基酸并不是肌醇磷酸生成即突触传递的唯一原因,当用 K^+ 使脑切片去极化时,也能看到 IP_3 的细胞内水平提高。另外,在毒蝇蕈碱反应中,个别兴奋性氨基酸还有抑制神经元内 IP_3 形成的功能^[4]。这些现象表明, IP_3 的产生可能在维持脑内具有各种时间常数的受体平衡,从而保证产生最适反应中起着作用。

5. 慢突触反应和肌醇磷脂

1982年以后,突触递质的研究方法有了很大的改进。过去的方法比较单一,一般是把脑切片和分离的神经节与 $[^{32}P]$ -PI 一起进行孵育,在存在或缺乏传递物质的情况下测定图3中磷脂吸收放射能的速度。稍微先进的方法是先将组织块在含有 $[^{32}P]$ -PI 的溶液中浸泡30分钟左右,磷脂标记后加上传递物质,观察这些磷脂放射能的降低,用这种方法观察到,当毒蝇蕈碱传递物质,如肾上腺素,组

胺,5-羟色胺,P物质,加压素,缩胆囊肽等被接受时,肌醇磷脂的放射能力产生了变化^[49]同时还观察了磷脂对 ACTH 和生长因子的代谢反应。这个时代可称作薄层分析的时代。此后不久,市场上出现了 3H -肌醇制品,使用 Dowex 交换柱分离肌醇磷脂分子 IP_1 , IP_2 和 IP_3 的方法开始问世,图1中的结果就是用这种方法获得的。因为确定了所有刺激都能产生细胞内 IP_3 的游离,所以 IP_3 理论在慢信息传递中已经被公认。

在上述这些研究中发现了几种有趣的现象:1) IP_1 , IP_2 和 IP_3 通过各自的磷酸脂酶分解,最后成为肌醇。 IP_1 磷酸脂酶是可溶性酶类,容易受 Li 的影响,因此刺激产生的 IP_1 可以通过 Li^+ 来积累^[46]。 Li^+ 作为躁郁病的治疗剂,其化学根据可能是由于 IP_1 磷酸脂酶作用受阻的缘故。2) 在实验中有人发现,肌醇磷脂可能有两种存在形式。一种数量较少,只占总量的10%左右,但代谢较快,受刺激容易分解,另一种含量较多,代谢较慢,对刺激不产生反应^[47]。如上所述,如果肌醇磷脂的储存有独立的两种形式,那么与 PI 代谢有关的酶不一定仅仅局限于内质网,细胞膜上也可能存在。

在慢突触反应中,GTP 结合蛋白质与 PLC 活性的关系是一个尚待解决的问题。有人在膜破裂的细胞上加 GTP 和 GTP 的类似物时,发现 Ca^{2+} 引起的刺激反应被促进了,这可能是因为被激活的 PLC 所产生的 IP_3 调动了钙的结果^[48]。在膜形成漏洞的神经细胞瘤中发现 GTP 可以直接从内质网游离 Ca^{2+} 。同时还有人报道在 10^{-7} mol/L 的 Ca^{2+} 浓度下并未观察到 GTP 类似物对肝细胞膜上加 PLC 的活性效应。所以 GTP 结合蛋白质是否是 PLC 激活媒介的问题尚须进一步研究。

另外,有人对腺苷酸环化酶(adenyl cyclase)系列的 GTP 结合蛋白质 NS 和 NI 是否与 PLC 活性有关的问题也进行了研究^[49],一致认为,百日咳细菌毒素能引起细胞膜内 $PI(4,5)P_2$ 的分解和肌醇磷酸的形成,故今后的实验可直接测定 IAP 对 PLC 的效应。

四、总 结

神经信息的传递即电子→物质→电子的转换需要一定的时间,最快者可快至毫秒数量级(尼古丁性感受器),慢者可慢至秒数量级(毒蝇蕈碱性感受器)。在后一种情况下,其化学反应速度可以充分追踪,因此以第二信使学说开始出现了各种流派。但是如果在毫秒数量级信息传递中只涉及肌醇磷脂的作用将是什么机制呢?

前面已经提到,当有人用 K^+ 使脑切片去极化时,细胞中 IP_3 游离的数量将大大增加,这就说明,电场的改变可以激活分解 $PI(4,5)P_2$ 的磷脂酶C。大量的 $PI(4,5)P_2$ 主要存在于双层膜的內侧面,磷酸基在水溶液中解离,带5个电荷,极性基被PLC释放之后,残留在膜内的大部分DG在其激酶的作用下直接磷酸化形成磷酸酯,对于该磷酸酯来说,只有用于二酯结合的磷酸基可以解离,带一个电荷,显然在此过程中有四个电荷丢失了,也就是说,刺激使PLC附近膜表面的荷电状态发生了激剧改变。

不难设想,电压性离子通道的开闭可能是因为膜表面产生的去电荷状态形成的表面波传到通道分子引起的。这种方式的信息传递速度可接近毫秒数量级。另外,此时产生的 IP_3 使储藏钙变为游离钙,因而激活了激酶C和钙结合的酶系统,使机能性蛋白质预先磷酸化,准备下一个刺激的到来。在这种情况下,通道分子的电压感受性完全决定于蛋白质的磷酸化。起过作用的分子暂时处于待机状态。如果磷酸化蛋白质磷酸酶是一种与膜内PI有选择结合的酶类,那么使PI分解的PLC的作用就是通过分解与膜内PI结合的磷酸酶,使机能蛋白质去磷酸,即PLC在信息传递中起着分子开关作用。另外,尽管目前对GTP结合蛋白质的作用还不太明确,但从一些文献来看,也许它在维持 IP_3 和cAMP两个信使的生产量中起着某种作

用。

虽然这里所论及的仅仅限于细胞内信息系统,但一般而言,细胞受到刺激后各种机能分子群都将一起活动起来,此时的信息以熵的形式传播。作为熵信息的传播可通过改变分子浓度和改变分子本身两种途径来实现。对于通过改变分子浓度而传播的信息,无论是在双层脂膜上传播的表面波还是其他形式的信息均可以预测。另外,通过改变浓度而传播的信息主要依靠 IP_3 , Ca^{2+} , GTP, ATP等分子的瞬时性变化来实现,这些物质通过扩散而传播,以蛋白质的磷酸化而结束。

参 考 文 献

- [1] Michell, R. H.: *Biochem. Biophys. Acta*, 1975, 415, 81.
- [2] Kai, M. et al.: *Biochem. J.*, 1966, 101, 382.
- [3] Rooijen, L. A. A. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1963, 112, 919.
- [4] Keough, K. M. W. et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, 1972, 270, 324.
- [5] Mark, S. E. et al.: *Lipid Res.*, 1984, 25, 75.
- [6] Nishizuka, Y.: *Science*, 1984, 225, 1365.
- [7] Kanh, H. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 1978, 85, 225.
- [8] Hesketh, R.: *Nature*, 1983, 360, 16.
- [9] De Bellerocche, J. E. et al.: *J. Neurochem.*, 1972, 19, 585.
- [10] Bleasdale, J. E. et al.: *J. Neurochem.*, 1975, 24, 373.
- [11] Dawson, R. M. C. et al.: In *Calcium and Cellular Function* (ed by Cuthbert, A. W.), Macmillan, London, 1970, 17—41.
- [12] Rostyuk, P. G.: *Biochem. Biophys. Acta*, 1981, 650, 128.
- [13] Berridge, M. J.: in *Towards Understanding Receptors*, (ed by Lawble, J. W.), Elsevier, North Holland, 1981, 122—131.
- [14] Bandry, M. et al.: *Nature*, 1986, 319, 329.
- [15] Dawnes, C. P.: *Cell Calcium*, 1982, 3, 413.
- [16] Michell R. H.: *Nature*, 1986, 319, 176.
- [17] Fainn J. N. et al.: *J. Biochem.*, 1979, 180, 655.
- [18] Gomperts, B. D.: *Nature*, 1983, 306, 64.
- [19] Nakamura, T. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1985, 260, 3584.

[本文于1987年9月10日收到]