

## 伏衬蛋白与学习记忆的突触机制

高 静 吴 馥 梅

(南京大学生物系生理教研室, 南京 210008)

### 提 要

伏衬蛋白是一种多肽聚合体, 广泛存在于多种动物细胞内, 在胞浆外层和质膜内侧形成一层“衬里”, 并在神经元和突触后致密物质内高度浓集。80 年代以来, 人们对这种蛋白质的生化特性、种间分布、细胞分布以及功能作用进行了不少研究。本文对有关资料作一简要的评述, 并重点介绍这种蛋白质在学习记忆突触机制中的可能作用。

**关键词** 伏衬蛋白, 学习记忆, 突触可塑性, 长时程突触增强效应 (LTP), 蛋白磷酸化作用

目前已经知道, 人和动物机体的许多重要机能都是由蛋白质分子完成的。在神经系统信息传递过程中, 各种信使引起特异性底物蛋白(如受体蛋白、细胞骨架蛋白、代谢酶类等)发生磷酸化作用, 从而产生某种效应<sup>[1]</sup>, 例如突触膜的蛋白磷酸化可引起离子通道的改变。随着分子神经生物学的兴起, 学习记忆突触机制的研究也深入到分子水平, 并已高度重视蛋白质分子的作用。现已发现体内的功能蛋白以聚合体(少则二聚体, 多则二十四聚体)的形式进行生命活动, 各单体(即亚基)本身的变化及相互之间的制约作用常常是生理活动在分子水平上进行调控的机制。本文要介绍的伏衬蛋白(fodrin)是研究较多的几种蛋白质之一, 并已重视其在学习记忆突触机制中的重要意义。

### 一、伏衬蛋白的特性

从本世纪 70 年代末开始, 国外一些实验室陆续对伏衬蛋白进行了研究, 曾采用过多种不同的名称, 如钙调素结合蛋白 I (calmodulin binding protein I, CBP-I), 钙调血影蛋白(calspectrin), 突触后密集二聚体(post-syna-

ptic density doublet, 即 PSD 二聚体)等。后来证明这些都代表同一种蛋白<sup>[2]</sup>。80 年代初期 Levine 和 Willard<sup>[3]</sup> 将这种蛋白质命名为 fodrin, 这个词引自希腊文 fodros, 是衬里(lining)之意。他们用特异性免疫荧光法观察到这种蛋白质抗原浓集于细胞质膜内侧, 即胞浆的外层, 似乎形成细胞的一层衬里, 故得此名。我们译为伏衬蛋白, 是兼顾到 fodrin 一词的发音与意义两个方面。

伏衬蛋白像很多功能蛋白一样, 是多肽的聚合体, 由分子量为 250000 和 240000 (也有报道为 235000 或 230000) 的两个单体组成, 这两个单体分别被称为  $\alpha$ -和  $\beta$ -亚基, 二者相互缠绕。用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳法可以分离该蛋白, 纯化的伏衬蛋白常为四聚体(tetramer), 估计在体内生理条件下, 这个由两个异二聚体组成的四聚体蛋白在细胞内呈丝状或网状。伏衬蛋白类似于红细胞的主要骨架成分——血影蛋白(spectrin), 二者的分子结构和物理、化学性质以及免疫学特性都很相似<sup>[4]</sup>。它也是钙调素(calmodulin)的结合蛋白, 能被钙依赖性蛋白酶(calpains 即钙离子激活的中性蛋

白酶)降解。离体条件下的研究表明,伏衬蛋白能影响依赖于肌动蛋白(actin)的一些生化过程,如G-蛋白的聚合作用(polymerization),F-肌动蛋白的交联作用(cross-linking)以及肌动球蛋白(actomyosin)  $Mg^{2+}$ -ATP 酶的调节作用。离体实验还证明  $Ca^{2+}$  与钙调素对伏衬蛋白的作用有明显影响。也有人<sup>[4]</sup>报导伏衬蛋白可在非受体连接的酪氨酸蛋白激酶的作用下发生磷酸化反应,而其磷酸化作用不受  $Ca^{2+}$  与钙调素的影响。伏衬蛋白分子发生磷酸化作用后可增强对肌动球蛋白  $Mg^{2+}$ -ATP 酶的激活效应。有活性金属离子存在时,磷酸化的伏衬蛋白可以被钙调神经磷酸酶(calcineurin, 一种神经钙蛋白,可被钙调素激活)脱磷酸化<sup>[5]</sup>。还有人<sup>[6]</sup>发现表皮生长因子受体激酶可使伏衬蛋白的 $\beta$ -亚基发生磷酸化作用,且伏衬蛋白也是胰岛素受体激酶合适底物。

## 二、伏衬蛋白的分布

伏衬蛋白在动物的多种组织细胞内广泛分布,包括神经组织和非神经组织(如骨骼肌、子宫、肠道上皮等)。它在动物界的种间分布也很广泛。有人<sup>[7]</sup>用荧光抗体技术证明,抗豚鼠伏衬蛋白的抗体和大鼠及奶牛的脑内伏衬蛋白抗原有交叉反应,和蟾蜍脑内抗原和鸡视网膜抗原也有交叉反应。从进化方面来看,伏衬蛋白的分布可以一直追溯到鱼类的星鲨(dogfish)。在高等动物的神经系统中,伏衬蛋白浓集于脑内神经元及突触后膜特化部位<sup>[5,7]</sup>。免疫荧光法清楚地显示该蛋白浓集于神经元胞浆表层和轴突质膜内侧,但它不存在于髓鞘中。神经元胞体新合成的伏衬蛋白随着快速运输成分下行运动,且与肌动蛋白、肌球蛋白及微管蛋白以相似的速率沿轴突运输。可见伏衬蛋白与细胞骨架蛋白及收缩蛋白相连而形成一个可流动的质膜衬里层,这种分布特点提示我们,它可能在调节细胞骨架结构及细胞运动中起着某种作用。有人<sup>[8]</sup>设想沿轴突运输的细胞器和蛋白质应以某种方式与提供机械力的装置相连,伏衬蛋白也许正是这种连接系统(linkage-system)

的成分,它把沿轴突运输的成分连接到轴膜内侧的产力系统(subaxolemmal force-generating system)上,这个系统很可能包括胞浆外侧的肌动蛋白<sup>[9]</sup>。伏衬蛋白分子构型的可塑性变化也许正是实现这种功能的条件。

## 三、伏衬蛋白在突触可塑性变化中的可能作用

随着分子生理学的兴起,探求各种生理现象的分子基础已提上日程。学习记忆是脑的高级机能,其重要基础是突触的可塑性<sup>[9,10]</sup>。而且已有人提出不同形式的突触可塑性可能是不同学习类型的神经基础,在分析比较Kandel型突触和Hebb型突触的基础上提出的这一假说已经得到某些实验证据的支持<sup>[11]</sup>。所谓突触的可塑性,既包括传递效能的改变(即电生理学上的变化)又包括结构参数的变化(即形态上的变化),二者的物质基础都涉及到神经元和突触部位某些分子和离子的物理化学变化。而蛋白质正是一切生命活动的重要分子基础,它们在实现突触功能中所起的作用已引起广泛重视。下面介绍伏衬蛋白在学习记忆突触机制中的可能作用。

### 1. 与学习记忆相关的突触效能变化

突触传递效能的可塑性首先是在神经肌肉接点上发现的强直后增强现象(post-tetanic potentiation, PTP),后来在脊髓单突触反射中也观察到该现象,但持续时间仅几分钟。1973年Bliss在家兔海马齿状回观察到由强直刺激引起的突触效能增强可长达10小时,于是称之为长时程增强现象(long-term potentiation, LTP)。后来,在很多脑区都记录到这种现象,甚至在离体脑片上也得到同样的结果,且持续时间可长达数星期。LTP有时也称为LTE(long-term enhancement)或LLP(long-lasting potentiation)。关键问题是:这种突触效能的可塑性是否和学习记忆等行为变化直接相关?1982年Thompson用家兔瞬膜条件反射模型观察到海马齿状回的突触传递效能随训练增强,这就是行为性LTP(behavioral

LTP)。后来在多种不同的行为模型上其他人也观察到这种 LTP，并证明动物记忆的好坏与 LTP 增强程度有明显的相关性，且无论 LTP 是否达最高水平还是完全消退，均超前于条件性行为反应的水平<sup>[12]</sup>。因此，LTP 被认为是动物脑内的一种记忆机理的模式<sup>[10,13,14]</sup>。

关于 LTP 产生的机理，近年来已有大量的研究。概括地说，LTP 的机制相当复杂：从突触连接来看，既有突触前成分（如神经递质释放量增加），又有突触后成分的机制（如受体数量增多，敏感性增高等）；从 LTP 的不同阶段来看，其启动（触发）阶段与维持阶段有不同的分子机制；从信息传递过程来看，涉及到多种蛋白质、酶和离子的变化，尤其是蛋白激酶和蛋白质分子的磷酸化作用。目前，已有人提出了 LTP 的基本模式及两个阶段的主要细胞化学变化过程<sup>[15,16]</sup>。详细机理本文不予赘述。

## 2. 伏衬蛋白在 LTP 的分子机制中的可能作用

LTP 这种记忆模式的突触修饰作用符合推论中的记忆编码与信息贮存的特性，因而必然有一种生化过程作为记忆存贮的中介。关于这一问题的一个重要假说是 Lynch 和 Baudry 提出的突触膜上谷氨酸受体暴露的假说<sup>[17]</sup>。这一假说的基础：

(1) LTP 的产生依赖于神经递质和突触后膜受体的相互作用。许多实验表明，酸性氨基酸（谷氨酸或天冬氨酸）是海马某些神经通路（尤其是产生 LTP 的通路）的神经递质。且从突触后膜上已经分离了谷氨酸受体。

(2) 突触后成分（尤其是树突棘）是可塑性变化的主要部位。在 LTP 产生过程中，增强作用主要发生在突触后成分，即突触后成分是记忆存贮的位点。最有力的证据是将  $\text{Ca}^{2+}$  螯合剂 EGTA 注入突触后靶细胞就能阻止 LTP 的形成。

(3) 伏衬蛋白参与突触膜表面受体的封盖作用（capping）。

在上述基础上 Lynch 和 Baudry 提出了 LTP 生化机制假说（图 1）。其要点是：（1）在

短暂的高频电刺激下，作为突触后成分的树突棘内的  $\text{Ca}^{2+}$  增加，激活了与质膜相连的钙依赖性蛋白酶；（2）被激活的钙依赖性蛋白酶使质膜内侧的伏衬蛋白降解，从而使封盖的谷氨酸受体暴露出来，于是就增加了突触后膜对谷氨酸递质的反应面；（3）一次高频刺激的发放只使部分受体分子暴露，而随后的继续发放作用于效能已经提高的突触上，引起更多的  $\text{Ca}^{2+}$  内流，相应地也有更多的蛋白酶被激活，由此产生伏衬蛋白层的不断降解，使树突棘形态发生变化，同时突触膜上的谷氨酸受体形成新的暴露点。这样就使突触增强效应得以维持，即具有长时程特性。由此可见伏衬蛋白在 LTP 的维持阶段起着重要作用。

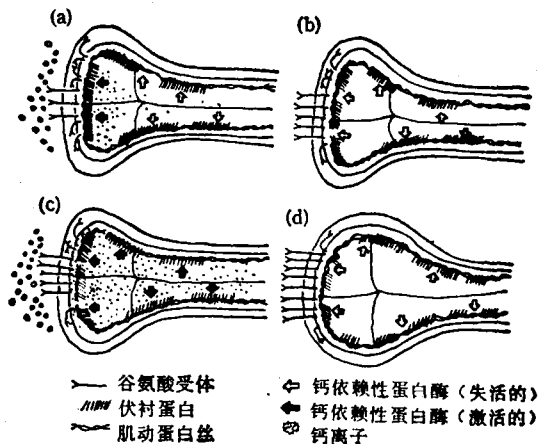


图 1 LTP 的突触机制图解

(a) 兴奋性递质（谷氨酸）释放使突触后  $\text{Ca}^{2+}$  升高，激活钙依赖性蛋白酶，使膜内的伏衬蛋白网部分降解，暴露出部分谷氨酸受体；(b) 一次发放后， $\text{Ca}^{2+}$  排出，钙依赖性蛋白酶失活；(c) 已暴露的谷氨酸受体使随后的刺激引起更多的  $\text{Ca}^{2+}$  内流，激活更多的钙依赖性蛋白酶，导致伏衬蛋白网广泛破坏，使更多的受体暴露；(d)  $\text{Ca}^{2+}$  又排出，钙依赖性蛋白酶又失活，但受破坏的伏衬蛋白网和暴露的谷氨酸受体仍存在，故突触后形态变化和增强的突触效能得以维持。这就是 LTP 维持长时间并伴随形态变化的机理

## 3. 伏衬蛋白与突触亚微结构变化的机理

大量的实验观察表明，接受外界刺激后，突触区的许多亚微结构参数都有改变。发生长时程增强效应后，树突棘有明显的形态学变化<sup>[18]</sup>。伏衬蛋白与突触区各种亚微结构参数的变化有什么相关性？目前对这个问题下结论还为时尚

早,但除图1所示的假说外,至少还有以下两方面的研究值得重视:

(1) 伏衬蛋白分子磷酸化与脱磷酸化过程引起其分子构型的改变,从而影响突触区的亚微形态。近年来的研究表明,蛋白质分子的磷酸化与脱磷酸化的可逆过程是多种生理功能的重要分子基础<sup>[19,20]</sup>。例如,某些蛋白质分子的磷酸化过程对突触膜上离子通道的开启或关闭起调控作用并调节突触小泡的神经递质排放等等。鉴于伏衬蛋白是遍及神经元及突触质膜内侧的一层衬里,而且离体实验也已证明其 $\alpha$ -和 $\beta$ -亚基在特异性蛋白激酶的作用下都可发生磷酸化作用<sup>[4]</sup>,由此可以设想:一旦突触质膜内侧“衬里”蛋白质在磷酸化或脱磷酸化过程中分子构型发生变化,则必然影响其亚微形态结构。行为训练或高频刺激后观察到的突触终扣增大,突触界面曲率改变、突触后膜增厚以及树突棘的棘头膨大与棘柄缩短等也许都与这种分子机理有关。尤其是突触后致密物质已被公认为最敏感的一种结构参数物质,而伏衬蛋白又被证明是突触后致密物质中的一种重要蛋白质,这二者的相关性值得注意。

(2) 伏衬蛋白与肌动蛋白共同构成突触亚微结构变化的动力机制。已知伏衬蛋白与血影蛋白(红细胞的框架蛋白)的结构、特性及细胞内分布都极为相似<sup>[2,4]</sup>,因此可以推测伏衬蛋白在神经元中起着与血影蛋白在红细胞中类似的作用,即在质膜下方构成细胞框架,是调节细胞形态的动力因素。这种调节作用很可能以肌动蛋白为中介。近年来的研究表明,伏衬蛋白是肌动蛋白的一种结合蛋白,在离体条件下已证明它能影响依赖于肌动蛋白的生化过程<sup>[4]</sup>,而肌动蛋白在神经元中起着结构蛋白和收缩蛋白的双重作用。在树突棘、轴突末梢和突触后致密物质等部位都已观察到束状或网状的肌动蛋白丝,并与质膜相连。因而有人<sup>[4]</sup>认为伏衬蛋白

作为质膜下方的一层“衬里”并不直接与质膜相连,而是“挂钩”在肌动蛋白丝上,与质膜相连的肌动蛋白丝是“衬里”与质膜的中介。这两类蛋白质共同维持细胞和突触的形态并对轴浆流动及细胞的收缩运动起调控作用,可视为细胞内的动力机构或化学能与机械能的转换装置。显然,二者也就必然成为神经细胞及突触区形态结构可塑性变化的重要基础。

以上仅仅是对伏衬蛋白的生化特性、分布及其在学习记忆突触机制中(可能)意义的简介。对于这种蛋白质的功能作用很值得进行深入的研究。

## 参 考 文 献

- 1 Lisman J E, Goldring M A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988; 85: 5320
- 2 Wang C, Ngai P K, Walsh M P. *Biochem*, 1987; 26: 1110
- 3 Levine J, Willard M. *J Cell Biol*, 1981; 90: 631
- 4 Wang C, Kong S K, Wang J H. *Biochem*, 1988; 27: 1254
- 5 许凤浩, 夏庆苏. 生物化学与生物物理进展, 1989; 16(5): 347
- 6 Akiyama T, Kadowaki T, Nishida E. *J Biol Chem*, 1986; 261(31): 14797
- 7 Carlin R K, Bartelt D C, Siekevitz P. *J Cell Biol*, 1983; 96: 443
- 8 Willard M, Wiseman M, Levine J et al. *J Cell Biol*, 1979; 81: 581
- 9 Tsukahara N. *Ann Rev Neurosci*, 1981; 4: 351
- 10 Thompson P F. *Science*, 1986; 233: 941
- 11 Morris R G M, Halliwell R F, Bowery N. *Neuropsychologia*, 1989; 27(1): 41
- 12 易立, 许世彤, 区英琦. 生理学报, 1989; 41(3): 223
- 13 Teyler T J. *Ann Rev Neurosci*, 1987; 10: 131
- 14 Anderson P, Sundberg S H, Sveen O. *J Physiol (London)* 1980; 302: 463
- 15 Linden D J, Routtenberg A. *Brain Res Reviews*, 1989; 14: 279
- 16 Matthies H. *Prog in Neurobiology*, 1989; 32: 277
- 17 Lynch G, Baudry M. *Science*, 1984; 224: 1057
- 18 Lee K S, Schottler F, Oliver M. *J Neurophysiol*, 1980; 44: 247
- 19 Reichardt L F. *TIBS*, 1984; 9(4): 173
- 20 Routtenberg A. *Ann NY Acad Sci*, 1985; 444: 203

[本文于1990年2月23日收到, 7月3日修回]