

综述与专论

G 蛋白与神经细胞的跨膜信息传输

徐 科

(中国科学院上海生理研究所, 上海 200031)

提 要

动物体中的细胞由其受体分子接收, 如激素或递质等信息传递物所携带的信息后, 或直接从离子通道给出反应, 或通过被称为 G 蛋白的转传器再传送给效应器分子给出反应。已发现的 G 蛋白有分子量约为 10 万和 2 万的两大类。前者的资料较多, 本文扼要叙述它们与受体的功能偶联, 以及在神经细胞中调控效应器, 特别是离子通道研究的进展。

关键词 G 蛋白, 受体, 转传器, 效应器, 离子通道

动物机体是一个数量庞大的细胞社会。很显然, 社会的每个成员, 即细胞之间必须不断地进行信息交换, 以协调各自的活动, 方能维持细胞自身及整个机体的生存。一般说来, 细胞间的信息传递, 除少数借助电信号者外, 绝大多数是以特殊的化学物质为媒介的化学传递。在较高等动物体内又出现了以传输和处理信息为主要功能的内分泌系统和神经系统。前者的信息传递物称激素, 后者的称递质和调质。此外, 在其它的一般细胞间尚有如组织胺和前列腺素等被称为自泌物 (autocoid) 的信息传递物。激素和递质被合成后通常贮存在胞浆的囊泡或颗粒中, 按需放出, 作用于靶细胞; 自泌物则散在于胞浆中, 直接释放出来作用于自身或附近的同类细胞。虽然如此, 它们都是从传出信息的细胞释放出来, 经过一定途径, 作用到靶细胞上受体 (receptor) 的特定位点后失去活力。靶细胞的受体接收信息后, 或立即通过效应器分子给出反应, 或先通过被称为转传器 (transducer) 的 G 蛋白再把信息传送给效应器作出反应。所谓跨膜信息传输便是指靶细胞受体接收信息直到其效应器给出反应的过程。

受 体

受体的概念是上世纪末由英国药理学家 Langley 提出的。长期以来, 此概念虽已受到普遍承认, 但关于受体的结构与功能的研究却进展较慢。只是进入八十年代方有突破性进展, 不仅发现了多种受体及其亚型, 特别是决定了相当数量的受体的一级结构, 使我们对受体的结构与功能有了较为系统的深入了解。

1. 膜受体与核受体 根据受体是位于细胞膜中, 还是在细胞浆和核中, 可相应地分为膜受体和核受体。已知的过半数受体属于前者, 它们是细胞膜中的糖蛋白分子。作用于核受体的信息传递物必须先穿过靶细胞膜方能与受体相遇, 这就要求它们要有疏水性。它们多为甾体化合物。两类受体不只是位置不同, 所接收与传送的信息性质也迥异。核受体的信息是调控由 DNA 向 mRNA 的转录, 而膜受体者则是调控蛋白的活化与失活过程。

2. 受体的结构类型 已阐明了一级结构的受体可分为三种类型: (1) 以 n 型乙酰胆碱受体 (nAChR) 为代表的、由 5 个亚基构成的受

体类型(图 1a)。每条亚基肽链往返穿过细胞膜 5 次, N 末端在胞外, C 末端在胞内, 5 个亚基围成离子通道。很显然, 这一类型的特点是集受体与效应器(通道)于一个分子内。属此类型者尚有 GABA_A 受体、甘氨酸受体和谷氨酸受体(包括 NMDA、QA 和 KA 亚型)等。(2) 以 mAChR 为代表的, 由一条连续往返穿过细胞膜 7 次的肽链构成的受体类型(图 1b)。多数膜受体属此类型。它们所接收的信息需要 G 蛋白的转传, 方能到达效应器。如效应器为离子通道,

并从通道的角度来分类时, 则文献中所常见的内藏接收器型通道(intrinsic sensor channel)系指前一类型, 而远离接收器型通道(remote sensor channel)则指后一类型。(3) 以胰岛素受体为代表的, 由单链构成且只穿过细胞膜一次的受体类型(图 1c)。此肽链也是 c 末端在胞内, 但在靠近细胞膜的 1 段具有酪氨酸蛋白激酶(tyrosine protein kinase; TRK)活性。属此类型者尚有上皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor)等。

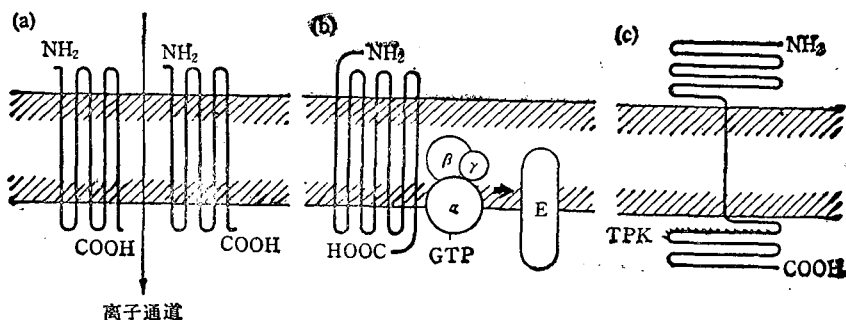


图 1 膜受体的分子结构类型示意图

转 传 器

Sutherland (1958 年) 发现, 无论胰高血糖素或肾上腺素作用于肝细胞时, 都首先生成环化腺苷单磷酸(cyclic adenosine monophosphate; cAMP), 再由后者激活磷酸化酶, 以分解糖原。接着又进一步观察到, 催化由 ATP 生成 cAMP 的腺苷酸环化酶(adenylate cyclase; ACase) 位于细胞膜的组分中。据此证据他提出, 若将在细胞外作用于受体的信息传递物(又称激动物) 作为第一信使, 那么在胞内生成的 cAMP 便是第二信使。这即是有名的第二信使假说^[1]。这一假说的提出导致了 G 蛋白的发现。

1. G 蛋白的发现 上述假说如正确, 那么在膜制备中加入不同的受体激动物, 可能都会导致腺苷酸环化酶活性的改变。这在 Rodbell 利用脂肪细胞膜碎片制备的实验中得到了证实。他观察到胰高血糖素、肾上腺素、ACTH 或 TSH 都可引起制备中的 cAMP 增加。不

仅如此, 他还发现, 在这类反应中鸟苷三磷酸(guanosine triphosphate; GTP) 的参与是必需的^[2]。随后的工作又表明, GTP 的非水解类似物, 如 GTP_S 等也可在反应中代替 GTP, 这又指出参与反应的不是 GTP 的分解产物。于是在此系统中与 GTP 直接反应的是受体、ACase, 还是另有未知化合物, 是需要进一步阐明的问题。经多方研究, 终于从膜制备中分离到特异结合 GTP 的新蛋白, 即 GTP- 结合蛋白或简称 G 蛋白, 在有的文献中也称鸟嘌呤核苷酸结合蛋白(guanine nucleotide binding protein)。顺便提到, 在发现 G 蛋白的过程中曾一度认为, 作为反应底物的 ATP 如大量存在时, 即使没有 GTP 参与, 反应仍可进行, 便认为新蛋白可结合两种核苷酸, 而把它称为 N 蛋白。但事实上 ATP 效应的出现是因为在 ATP 试剂中混入了 GTP 的缘故, 所以 G 蛋白的名称得到公认^[3]。

2. G 蛋白的种类和结构 G 蛋白是一组分子量约 10 万的可溶性膜蛋白, 是迄今发现的介

于受体与效应器之间的唯一的转传器蛋白,被研究较多的为 G_s 、 G_i 、 G_o 和 G_t 四种。这是根据它们对效应器的作用而命名的。 G_s 与 G_i 分别是刺激与抑制 ACCase 活性者, G_o 则是不影响 ACCase 的其他 G 蛋白,它在脑中最多,约占总膜蛋白的 1%。 G_t 是专指传送视网膜光感受器(视杆与视锥)细胞跨膜信息传输中的 G 蛋白,文献中曾称为 transducin。四种 G 蛋白都是由三个亚基构成,依分子量分别命名为 α (3.9—5.2 万)、 β (3.6 万)和 γ (0.8—1.0 万)亚基。四种 G 蛋白的 β 亚基可能是相同的, γ 亚基只是稍有差异,并且如无变性, β 与 γ 一般不会解离。四种 G 蛋白的特点主要表现在 α 亚基^[4]。

除上述四种 G 蛋白及其一些亚型外,还发现一组分子量约 2 万的单体 G 蛋白。如把分子量约 10 万,含有 3 个亚基的 G 蛋白称为高分子 G 蛋白,则这种分子量约 2 万的单体 G 蛋白便为低分子量 G 蛋白。本文如无指出, G 蛋白仅指前者^[5]。

3. G 蛋白的基本性质 (1) 具有结合 GTP 的功能,在 α 亚基上有结合 GTP 或 GDP 的位点,如无变性,便不会空着。结合 GDP 的 G 蛋白为非活化型,结合 GTP 者为活化型。(2) α 亚基具有将 GTP 转化为 GDP 的酶活性,当 α 亚基与 GTP 结合的同时,便对 GTP 进行水解,使之转化为 GDP。但 α 亚基的这种酶活性与通常的酶相比,催化速率很低。在实验中为了排除这种酶活性,常使用不被水解的 GTP 类似物,如 $GTP_{\gamma}S$ 或 $G_{pp}NH_p$ 来代替 GTP。(3) 霍乱毒素 (CTX) 和百日咳毒素 (PTX) 分别使 $G_{s\alpha}$ (在精氨酸残基上)和 $G_{i\alpha}$ (在半胱氨酸残基上) ADP-核糖基化,前者的必需因子为烟酰胺腺苷二磷酸 (nicotiamide adenosine-diphosphate; NAD) 或 ADP-核糖基化因子 (ARF); 后者的则是 $\beta\gamma$ 亚基。 $G_{s\alpha}$ 被 ADP-核糖基化后,其水解 GTP 活性被抑制,另一方面即使没有激动物作用于受体, G 蛋白从非活化型向活化型的转化也会缓慢地进行,因而便会有 cAMP 的堆积。由于 G_s 只作用于 ACCase,

所以在实验中当用 CTX 之后而引起 cAMP 堆积时,便可作为 G_s 参与反应的证据。 $G_{i\alpha}$ 或 $G_{o\alpha}$ 被 PTX 进行 ADP-核糖基化之后, G_i 或 G_o 便与受体脱偶联,即当激动物作用于受体时,再不能引起 G 蛋白上的 GDP 与 GTP 交换。因此刺激某种受体而引起的效应器反应,若在 PTX 作用下消失,则应是 G_i 或 G_o 参与反应的证据。 G_t 对两种毒素都敏感。还有小鼠淋巴瘤 S49 细胞具有一种特性,当培养基含有肾上腺 β 受体激动物时,会因在体内聚积 cAMP 而死亡,但它的 cyc^- 突变株则在同样条件下也可正常生长。这是由于突变株细胞膜中无 G 蛋白的缘故,因而向此株培养基中加入受检样品后, β 激动物如可导致突变株细胞因 cAMP 的聚积而死亡,则提示受检样品中含有 G 蛋白。

(4) 活化型 G 蛋白可调控效应器的功能。

效 应 器

生理学中通常把有机体接受刺激而对外作出反应的器官,如肌肉和腺体称效应器,但在细胞的跨膜信息传输中所谓的效应器则指接受 G 蛋白作用的酶或离子通道。

1. ACCase G_s 和 G_i 调控的对象。此酶广泛地存在于多种细胞膜中,分子量约 15 万,附有糖链,可为从印度产植物 (*Coleus forskohlii*) 提取的 forskohlin 所激活。与 G_s 偶联的有肾上腺 β 受体、胰高血糖素受体和司嗅觉的受体等;与 G_i 偶联的受体有肾上腺 α 受体等。

2. cGMP-磷酸二酯酶 (cGMP-PDE) G_t 所调控的对象。杆细胞中的 G_{t1} 和锥细胞中的 G_{t2} 均可激活此酶,以催化 cGMP 生成 5' GMP,由于前者的减少而导致 Na^+ 通道的关闭。

3. 磷脂酶 C (PLC) 激活此酶的 G 蛋白至少有三种亚型,即对 CTX 和 PTX 都不敏感者 (有人建议称 G_p), 以及只对二者之一敏感者。此酶催化磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol; PI)、磷脂酰肌醇单磷酸 (phosphatidylinositol monophosphate; PIP) 和磷脂酰肌醇二磷酸

(phosphatidylinositol diphosphate; PIP_2), 使它们分别水解为甘油二酯 (diacylglycerol; DG) 和肌醇磷酸 (IP)、肌醇二磷酸 (IP_2) 和肌醇三磷酸 (IP_3), 其中 DG 和 IP_3 为第二信使, 即参与信息传递。

4. 磷脂酶 $\text{A}_2(\text{PLA}_2)$ 如 G_i 和 G_o 可激活此酶, 催化从生物膜脂类释放花生四烯酸 (arachidonic acid; AA), 后者的代谢产物开启 K^+ 通道等。

5. 离子通道 神经细胞活动中最多见的效应器, 有的不需 G 蛋白, 有的受 G 蛋白直接调控, 有的通过第二信使调控。

受体与 G 蛋白的相互作用

前已分别介绍了受体、转传器和效应器的知识。下边将讨论它们互相间的功能偶联。

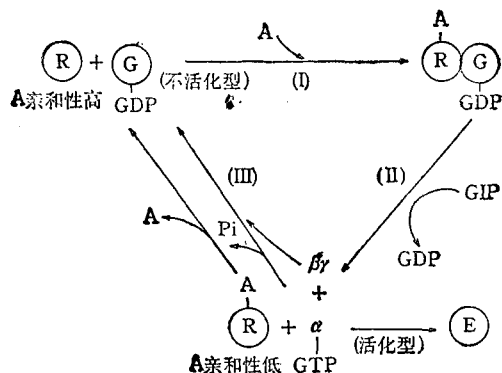


图2 受体分子与 G 蛋白的功能偶联

如图2左上角所示, 休止时的 G 蛋白分子是以 G-GDP 的形式存在着。当激动物 A 与受体分子 R 结合时, 则 R 与 G 的亲性和升高, 形成 $\text{A} \cdot \text{R} \cdot \text{G-GDP}$ (图2右上角), 于是细胞浆中的 GTP 与 α 亚基上的 GDP 交换, 形成 $\text{A} \cdot \text{R} \cdot \text{G-GTP}$ 。但这一复合物极不稳定, 迅速分解成 $\text{A} \cdot \text{R}$ 和 G-GTP , 后者又进一步分解成 $\alpha\text{-GTP}$ 和 $\beta\gamma$ (图2下角)。概括地说, 这一系列变化是 A 与 R 结合, R 由活化型 (即与 A 亲和性高) 变成不活化型的同时, G 则由不活化型变成活化型。这即是受体与 G 蛋白的共轭偶联。 $\alpha\text{-GTP}$ 与效应器 E 结合, 激活 E, 与此同时 α 亚基也开始水解 GTP 而成为 $\alpha\text{-GDP}$, 于是

便失去激活 E 的作用, 接着又与 $\beta\gamma$ 再结合起来, 恢复到 G-GDP 状态。R 与 A 的亲力降低而解离, 于是 R 又恢复活化状态 (图2左上角)。

G_i 与 G_o 的活动方式可能是相似的, 但也有工作表明, 当 G_i 分解成 $\alpha_i\text{-GTP} + \beta\gamma$ 时, 后者可能直接抑制 ACase, 或与 G_{sa} 结合以减少 G_{sa} 的方式间接地抑制 ACase 的活力。前已提到, α 亚基水解 GTP 的速率很低, 故据估计 1 分子的 $\alpha_i\text{-GTP}$ 可催化生成数百分子的 cAMP。

G 蛋白对离子通道的调控^[6]

前边已提到, 离子通道可分为内藏接收器型与远离接收器型。很显然, 在前者的活动中没有 G 蛋白的介入, 不过即使在后者的信息传递中也可能存在无 G 蛋白参与的情况, 虽然迄今所发现的转传器只有 G 蛋白一类。如 Benham 等^[7]所报道的, 平滑肌细胞的嘌呤受体和与其偶联的 Ca^{2+} 通道就可能是两个独立的分子, 而又在信息传递中无 G 蛋白介入的例子。当然最终证实这点, 尚需分别把两种蛋白纯化, 并进行重组实验。下边再根据近年的研究进展, 将远离接收器型通道的信息传递分三种方式介绍如下:

1. G 蛋白+离子通道 有些离子通道被证明是由 G 蛋白直接调控的。至少 K^+ 与 Ca^{2+} 通道中已发现有以此方式传递信息者。迄今发现的直接调控 K^+ 通道的 G 蛋白都是 PTX 敏感的, 但反过来说, 并不是所有 PTX 敏感的 G 蛋白都直接控制 K^+ 通道。因此有人建议将那些 PTX 敏感而又直接调控 K^+ 通道的 G 蛋白称为 G_k (与电生理学中的 G_k 为两种含义)。电生理研究表明, 在豚鼠心房肌细胞由 ACh 和腺苷介导的系同一种 K^+ 通道。Kurachi 等^[8]报道, 在“内面向外”班片膜技术记录离子通道活动条件下, 用微电极电泳注射 ACh 并不能打开 K^+ 通道, 但向灌流液中加 GTP 或类似物, 则可开启 K^+ 通道。这一效应可为 PTX 所阻遏。这一结果既直接证实了 G_k 直接调控

K⁺ 通道,又否定了以前关于 cGMP 参与此调控的设想。大鼠海马锥体细胞的 5-HT 和 GABA_B 所介导的 K⁺ 通道也是通过 G_K 调控,此外,尚有在海兔神经节细胞上与多巴胺(D₂)、组织胺(H₂)受体以及 mAChR 偶联的 K⁺ 通道等都属此方式。

至于由 G 蛋白直接调控的 Ca²⁺ 通道, Mattera 等^[10]和 Yatani 等^[11]报道,从红细胞膜纯化的 G_o,既激活 ACase,又能开启 L 型 Ca²⁺ 通道。

2. G 蛋白+效应器酶+第二信使+通道 前边提到的视网膜中的视杆和视锥细胞接受光刺激时,前者通过 G_{i1},后者通过 G_{i2} 激活效应器酶 cGMP-PDE,催化分解 cGMP (第二信使),后者的减少导致 Na⁺ 通道的关闭(在黑暗中视细胞的 Na⁺ 通道是在 cGMP 作用下而开放着)。最近苏联的 Krapivinsky 等^[12]又报道 G_i 的 α 亚基可直接阻遏视锥细胞 Na⁺ 与 Ca²⁺ 通道的开放。此外尚有报道,嗅上皮电压门控 Na⁺ 通道可由 cAMF 直接开放。

3. G 蛋白+效应器酶+第二信使+蛋白激酶+通道 这种方式中又有几种途径:

(1) G_s 激活 ACase 催化生成 cAMP,后者激活蛋白激酶 A(PKA)使通道氧化磷酸化。Osterrieder 等早在 1982 年报道^[13],向心肌细胞电泳注射 cAMP-PKA 可引起电压门控 Ca²⁺ 通道开放机率升高。最近 Flockerzi 等^[14]又报道,由骨骼肌细胞 T 管提取的 L 型 Ca²⁺ 通道可由 PKA 所开启。

(2) G 蛋白+cGMP+PKG+通道 Paupardin-Tritsch 等^[15]报道,向蜗牛神经元电泳注射 PKG 可增加电压门控 Ca²⁺ 电流和强化 5-TH 敏感 Ca²⁺ 电流,并认为这是由于 5-

HT (经过 G 蛋白)引起细胞内的 cGMP 升高,导致 cGMP-PKG 活性升高,使得电压门控 Ca²⁺ 通道活动增加。

(3) G 蛋白+PLC+DG+PKC+通道 前边已提到 G_p 激活 PLC,后者催化磷脂酰肌醇等分解出 DG,以激活 PKC,并由 PKC 调控 K⁺ 通道^[16,17];另一方面,PLC 催化分解磷脂酰肌醇时所生成的 IP₃可动员内质网放出 Ca²⁺,后者又可激活 K⁺ 和 Cl⁻ 通道。

(4) 近年又有报道,G 蛋白激活 PLA₂,后者再催化从细胞膜脂类生成花生四烯酸,此酸的代谢产物可活化心肌 K⁺ 通道^[18]。

参 考 文 献

- 1 Robinson G A *et al.* *Ann N Y Acad Sci*, 1967; 139 (3): 703
- 2 Rodbell M, Bimbaumer L, Pohl S L. *J Biol Chem*, 1971; 246 (6): 1877
- 3 Kimura N, Nagata N. *J Biol Chem*, 1977; 252 (11): 3829
- 4 Gilman A G. *Ann Rev Biochem*, 1987; 56: 615
- 5 Kawata M *et al.* *J Biol Chem*, 1988; 263 (35): 18965
- 6 Sato M. *Jpn J Physiol*, 1989; 39(4): 461
- 7 Benham C D, Tsien R W. *Nature*, 1987; 328: 275
- 8 Kurachi Y, Nakajima T, Sugimoto T. *Pflugers Archiv*, 1986; 407(3): 264
- 9 Andrade R, Malenka R C, Nicoll R A. *Science*, 1986; 234: 1261
- 10 Mattera R, Malenka R C, Nicoll R A. *Science*, 1989; 243: 804
- 11 Yatani A *et al.* *J Biol Chem*, 1988; 263 (20): 9887
- 12 Krapivinsky G B *et al.* *FEBS Lett*, 1989; 247 (2): 435
- 13 Osterrieder W *et al.* *Nature*, 1982; 298: 576
- 14 Flockerzi V *et al.* *Nature*, 1986; 323: 66
- 15 Paupardin-Tritsch D *et al.* *Nature*, 1986; 323: 812
- 16 El-Fakanany E E *et al.* *FASEB J*, 1988; 2 (10): 2575
- 17 Katada T *et al.* *Eur J Biochem*, 1985; 151(2): 431
- 18 Kim D *et al.* *Nature*, 1989; 337: 557

[本文于1990年4月23日收到,8月1日修回]