DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.01.036

神经细胞粘附分子结构与生理功能研究进展*

综述

Progress in the structure and physiological function of neural cell adhesion molecules

胡志安** 黎海蒂 综述 (第三军医大学基础医学部生理学教研室)重庆,400038
董燕麟 审校 (第三军医大学基础医学部生物化学教研室)重庆,400038

同一类型的细胞通过识别而粘附,不易分开,这种细胞粘附(Adhesion)现象早在1907就被 Wilson注意到。60、70年代人们致力于发展研究粘附现象的方法和明确有特异性和选择性的分子存在。70年代末,借助免疫识别的方法,初步确定细胞粘附分子(Cell adhesion molecule,CAM)的存在。事实上,细胞的粘附在细胞周期调控、形态发生、变形和再生过程中极为关键。神经系统中神经元的粘附现象及其在突触的可塑性作用的研究近年来格外引人瞩目,以下拟介绍神经细胞粘附分子(Neural cell adhesion molecules, NCAMs)等 CAMs的分子结构、信号传递和生理功能。

1 NCAMs分子结构与分子合成

1.1 神经系统细胞粘附分子分类

存在于脊椎动物和无脊椎动物神经系统的 CAMs种类颇多。有关 CAMs的分类尚无统一标准。一般分法是将其分为 Ca^{2+} 依赖和 Ca^{2+} 非依赖两大类[1,2]。前者包括粘着蛋白家族(Cadherins),后者包括整合素家族(Integrins)、选择素家族(Selectins)、免疫球蛋白超家族(Ig superfamily)和膜相联蛋白多糖(Membrane-associated proteoglycans)。免疫球蛋白超家族又包括许多成员,神经细胞粘附分子(NCAMs)属其中一个大类。在大鼠 NCAMs包括 NCAM、L等几种不同分子。

1.2 NCAM的结构

NCAM是一组多肽链,每一条链都有5个连续的同源区,区内有一个链内二硫键,与免疫球蛋白超家族类似。5区之后为类似于纤维粘连蛋白Ⅲ(FibronectinⅢ)重复系列的重复区。不同肽链的的差别既表现在胞浆区的不同,也表现在与细胞膜连接的方式不同。如鸡的 NCAM有3个多肽,3个多肽的胞外区都是一样的,所不同的是跨膜区和胞内区,此由 mRNA不同剪切所致。两个较大的多肽以胞浆段整合到膜蛋白,大的(ld)在胞浆区有额外的261个氨基酸,小的(sd)则没有,最小的(ssd)则无跨膜区,无胞浆区。ld和 sd整合到膜上,能运动,可被脂肪酸酰化;ssd无跨膜区,但锚在磷脂上,更易于在膜表面运动。sd和 ld胞浆区可与细胞的有关分子相互作用,发生丝氨酸、苏氨酸的磷酸化,其中 ld含有更多的磷酸化位点。5区及以上的3个位点结合有寡糖,包括多唾液酸(α-2,8-PSA)等。

NCAM的结合活性位于 Fr1片段(6.5× 10^4u),含氨基末端,无大量的 PSA,不超过400残基。CNBr片段含大量 PSA,PSA位于404、430和459位的天冬酰胺连接的寡糖结构(Asparagine-linked oligosaccharides, ALO)上。NCAM有4个100氨基酸的识别片段,与 Igs和其他的 NCAM同源,区区作用是同种亲合的结构基础,结合的区为Ⅰ和Ⅳ区,但未弄清具体的位置,这点与 Igs不同。NCAM结合的特异性不代表结合区氨基酸顺序的改变,换句话说,结合的特异性不取决于氨基酸的顺序,起作用的是一系列细胞表面修饰事件。如含 PSA的第5区可调控 NCAM的结合能力,寡糖链的硫酸化也可通过改变电荷的状态来影响同一区结合。

NCAM的三维结构电镜分析表明,分子末段有一绞链结构,这种绞链结构有助于在细胞形态改变时易化跨膜的同种亲合,否则,不利于同种亲合。α-2,8-PSA在 NCAM中的作用源于静的负电荷、巨大的排斥力量。它能改变绞接的角度以满足有复杂膜的细胞的多重同种亲合。

1.3 表达与合成的调控

NCAM中所有的多肽都是单一基因编码,该基因位置是鼠在9号染色体、人在11号。鸡的 NCAM编码区至少有19个外显子,横跨50 kb,第14个外显子对3条肽通用。CAMs的表达是有位置和组织特异性的。它的合成随信号和反式调控元件的不同而不同,很多的转录后元件也可调控 CAMs的合成。

目前对 CAM表达调控的基因机制已有了较多了解。NCAM和 NgCAM基因中一部分调控位点已被鉴定,这些位点能与 Hox和 Pax基因编码的转录因子结合。在 NCAM基因的 RNA起始点的上游区,有 SP1转录因子和 cAMP反应元件结合蛋白(CREB)转录因子结合位点。反式调控元件包括5个神经元限制的沉默元件(Neuron-restrictive sliencer elements)和一个 Pax产物的结合位点。CAMs合成后一个重要变化就是进

* 国家自然科学基金资助,No. 3960048
** 胡志安,男,35岁,讲师,博士生
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

行糖基化 (Glycosylation)修饰。在小鸡,NCAM的每一条多肽都至少有 4组 ALO,最初附加的糖链都是高甘露糖链,在 30 min内转成复合型。NCAM的 Ig区 PSA可显著影响分子之间的结合速率,因此,NCAM的 PSA合成倍受重视。尽管 PSA可能受物理性电活动的影响,但基本上还是受合成的调控,特别是受发育的进程调控。迄今为止,已有两种涎酸基转移酶 (Sialyl transferases)被克隆,即 Pst和 Stx,它们参与糖基的合成。被支配的靶和电活动可影响 PSA的合成,Ach和 NMDA介导的钙的内流以及 PKC有利于 PSA的合成。

2 NCAMs在细胞粘附过程中的信号传递

现在,已初步明确各种粘附分子的结合能在胞内启动信号的传递过程。该信号途经可以与其它受体的信号途径实现对接。这里简单回顾一下常见受体介导的信号途径,它们包括: 1)受体酪氨酸激酶途经 (Receptor tyrosine kinase pathway, RTK): 这条途径开始于 RTK,ras是该途径的中心,故又称 ras途径。RTK与各种生长因子结合后,受体在膜上集中,并导致激酶的激活和特异酪氨酸残基的自动磷酸化。ras激活后,通过对转录因子的磷酸化,将信号传到胞核。但该途径并无特异性。其它信号途径可与之相通; 2)G-蛋白途径; 3)其它途径: 一些细胞因子如白介素的受体可激活胞浆性酪氨酸激酶家族的 the janus kinases(JAK-STAT),该激酶可启动 ras信号途径,也可直接激活名为 STATs的胞浆蛋白,从而调控某些基因转录。值得注意的是,上述信号途径不同程度地与细胞骨架有双向作用。如较小的 GTP结合蛋白分子 Rho和 Rac发现与肌动蛋白有关。

现有资料表明,由细胞粘附分子介导的信号传递在细胞生长、分化和行为方面有重要的作用,并有可能介入了经典的传导途径[3]。

NCAM、L1可改变胞内的 pH和 cAMP,对胞内 Ca^{2+} 的影响更引人注目。NCAMs所致的突起生长需要 G蛋白和 L型、N型钙通道的参与,模拟钙通道的开放则同样能刺激突起的生长[4]。使用酪氨酸激酶的抑制剂表明,在突起生长的过程中,非受体的酪氨酸激酶的活性是增高的,且在钙通道激活之前。L1所到之处所致的 Ca^{2+} 变化也是 L型钙通道开放的结果。进一步研究表明,NCAM可激活酪氨酸激酶基因 fyn,而 L1则激活酪氨酸激酶基因 src。除此之外,NCAM还可通过花生四烯酸 (AA)激活钙通道。可见,NCAMs涉及 G蛋白和酪氨酸激酶途径。Ig家族的信号传导作用还可在与之有相同结构的酪氨酸激酶和酪氨酸磷酸化酶看出。这两类酶有胞外区,也有 Ig的结构域,能触发同种、钙非依赖的粘附,还可刺激激酶的活动。如 NCAM抗体能造成 tubulin的酪氨酸、丝氨酸/苏氨酸的脱磷酸化,表明 NCAM、L1涉及酪氨酸激酶和磷酸化酶的调节。

在非神经系统中,细胞基质与细胞粘附所致的基因表达非常常见。但有关由 CAMs等介入的细胞与细胞粘附所涉及的基因表达报道较少。

生长因子、肿瘤激活因子、激素等都能影响到各种 CAMs的合成。神经生长因子、cAMP可刺激 PC12和 Schwann细胞表达 L1和 NCAM。许多胞内信号系统和胞外信号分子能由神经冲动产生,它们进而调节 CAMs的表达。如一部分神经递质能上调培养的 N2A细胞和小脑颗粒细胞中 L1的表达。在海兔研究发现,神经肽能降低其运动神经元的表面海兔的细胞粘附分子 (apCAM)的表达,而 5-HT则降低其感觉神经元的 apCAM的表达。

最近的离体试验表明,神经冲动也可影响 CAMs的表达。在胚胎背根神经节 (DRG)中,自发电活动的发展与外周靶的神经支配相偶合,发现动作电位的作用能使突触长芽,并进入大鼠的背根神经节。给培养 DRG神经元施予低频电刺激可下调 L1的表达,但不影响 NCAM,当用高频刺激时,对 L1无影响。低频刺激可导致明显的轴突解聚 (Defasciculation)和粘附的降低。神经冲动活动也对突触的形成和稳定发挥作用,在小鸡肌纤维孵育之前,NCAM和 N-粘着素水平极低,而在除神经支配后迅速增加。神经冲动亦能调节 PSA-NCAM转移到皮层神经元表面的过程。

3 CAMs在神经系统可塑性中的作用及其机制

各种不同的 CAMs大量存在于海马的前后突触的膜上。采用多种技术手段,现在已积累了有关 CAMs参与神经系统可塑性的大量资料[5-9]。第一,在经常发生神经发生和可塑性的脑区有发育阶段特性的突起生长和细胞的迁移,并有 CAMs的表达; 第二,在突触可塑性和学习中,有 CAMs表达的变化和各种转录后修饰; 第三,抗体和抑制 NCAM表达可损害突触传递长时程增强 (LTP)和学习。

L1和 NCAM的相互影响涉及 LTP,这种相互关系依赖于 L1上的寡甘露糖链,它能结合 NCAM的第四个 Ig区,若这种关系被破坏,LTP则被强烈抑制。提示第四区似乎特别关键,而第一区则不然。海马脑片注入 NCAM抗体阻断高频刺激所致的 LTP,而不影响基本的突触传递。当 LTP建立 10 min后,L1和 NCAM抗体对其无影响,表明 NCAM涉及 LTP的起始阶段。曾报道过 L1的抗体和重组片断对 LTP的影响,在用星形胶质细胞异位表达 L1的转基因鼠上,LTP受损,而一般突触传递和 PTP双脉冲易化不受影响,说明 L1介导的突触形态改变是 LTP维持所必需的。

神经细胞粘附分子参与可塑性有两个机制: 其一为 CAM介导的细胞骨架动力的改变,涉及活动依赖的突触重建。N-粘着蛋白的胞浆区直接与细胞骨架作用,而 NCAM、L1的胞浆区直接与 ankyrins(位于特异胞膜区的胞浆表面的 spectrin结合蛋白家族的一员)相连。其二为胞内信号系统。这种胞内信号有如下的特点: 就是胞内信号的改变可反馈到突触后膜,通过 CAM调控细胞与细胞的粘附,以迅速地改变突触的结构和效

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

率。胞内蛋白水解酶 calpain水解 NCAM的胞内区能较快地解除和重新组织突触的结构联系。

在研究 Aplysia的缩鳃反射时,发现有新的突触联系形成,且与长期记忆平行。在此过程中既有新的蛋白合成,也有蛋白的减少,如海兔 CAM(apCAM),但这种减少只发生在感觉神经元的细胞表面,新蛋白的合成则受 cAMP的调控[10,11]。看来,apCAM是使感觉神经元通过同种亲合造成粘着而限制生长,训练使 apCAM发生内在化作用(Internalization),造成感觉神经元的突触前解粘。在多种动物的长时突触可塑性中,发现都有依赖 cAMP PKA介导的转录和 CREB介导的基因表达现象。CREB已被鉴定存在 CREB1(激活子)和 CREB2(抑制子)两种类型。最近,又确定了 3个基本的记忆突变型,即 dnc, rutabaga和 amnesiac,它们都涉及 cAMP途径。CREB所致的基因表达是执行突触结构功能成分生长的一个因素。dnc突变中,CREB2抑制功能性而不是结构性可塑性,在 FasII 减效基因中,CREB1可致突触结构和功能的增强。在野生型,CREB1的表达并不能增强突触功能。提示,CREB和 FasII 的作用是平行的。cAMP的升高,降低 CAM,促进结构生长,与此同时,CREB1则刺激突触功能的增强。

反复暴露感觉神经元于血清素,发现 apCAM能产生某特异形式的磷酸化,从而使 apCAM内在化和降解(涉及依赖泛素水解酶途径)。这种降解有利于突触前轴突的同种亲合的解除、长芽和与突触后细胞新联系的建立。那些有胞浆尾巴含降解信号顺序的 apCAM能被降解,而只有细胞表面部分的 apCAM而则不被降解。要完成此降解过程,MAP与 CREB还需刺激泛素 C末端水解酶的表达[12]。

现已明确兴奋性氨基酸 AMPA受体与 LTP的维持有关,那么 NCAMs是否与这类兴奋性氨基酸受体有关呢?通过神经氨酸酶减少 NCAMs中的唾液酸残基(Sialic acid residues, SSR)会影响到 NCAM的结合特性。神经氨酸酶作用皮层神经元膜(15、37℃)后,使 NCAMs 140和 180的外观大小减少约 5%,而对不同的氨基酸受体大小无影响。但使放射标记的 AMPA与其受体结合率提高 20%,对其它氨基酸受体则无明确影响。说明,胞外环境特别是 SSR可影响 AMPA受体的结合特性[13]。在海马的空间和非空间学习中,海马齿状回的 NCAM的 PSA的瞬时和时间依赖的修饰是其特点之一。

从以上对有关 NCAMs文献复习看出,NCAMs作为神经元胞膜上的结构分子,既参与了常规的跨膜信号传递,又参与形态结构的形成与维持,因而在突触活动,特别是可塑性活动中发挥了特殊作用。但由于 NCAMs分子结构复杂,种类多,目前仍有许多问题有待阐明,如 NCAMs与常规的膜受体有何具体空间关系与功能联系尚不清楚。

关键词　神经细胞粘附分子;信号传导;突触可塑性
中图法分类号　R338.1

参考文献

1 Edelman G, Crossin K L. Cell adhesion molecules: implications for a moleculear histology. Ann Rev Biochem, 1991, 60(7): 155

2 Fields R D, Itoh K. Neural cell adhesion molecules in activity-dependent development and synaptic plasticity. Trends neurosci, 1996, 19(11): 473

3 Rosales C, O'Brien V, Kornberg L, *et al*. Signal transduction by cell adhesion receptors. Biochimica et Biophysica Acta, 1995, 1242(12): 77

4 Doherty P, Ashton S V, Moore S E, *et al*. Morphoregulatory activities of NCAM and N-cadherin can be accounted for by G-protein-dependent activation of L-and N-type neuronal Ca^{2+} channels. Cell, 1991, 67(10): 21

5 Jones L S. Integrins: possible funtions in the adult CNS. TINS, 1996, 19(1): 68

6 Schmidit R, Brysch W, Rother S, *et al*. Inhibition of memory consolidation after active avoidance conditioning by antisense intervention with ependymin gene expression. J of Neurochemistry, 1995, 65(12): 1465

7 Rose S P. Cell adhesion molecules and the transition from short-to long-term memory. J Physiol Paris, 1996, 90(3): 387

8 Muller D, Wang C, Toni N, *et al*. PSA-NCAM is required for activity-induced synaptic plasticity. Neuron, 1996, 17(9): 413

9 Luthi A. Hippocampal long term potentiation and neural cell adhesion molecules L1 and NCAM. Nature, 1994, 372(5): 777

10 Martin K C, Kandel E R. Cell adhesion molecules, CREB, and the formation of new synaptic connections. Neuron, 1996, 17(10): 567

11 Hegde A N, Inokuchi K, Kandel E R, *et al*. Ubiquitin C-terminal hydrolase is an immediate-early gene essential for long-term facilitation in Aplysia. Cell, 1997, 89(8): 115

12 Kornhauser J M, Greenberg M E. A kinase to remember: dual roles for MAP kinase in long-term memory. Neuron, 1997, 18(4): 839

13 Hoffman K B, Kessler M, Lynch G. Sialic acid residues indirectly modulate the binding properties of AMPA-type glutamate receptors. Brain Res, 1997, 753(2): 309

(收稿: 1998-10-05;修回: 1998-12-10)
(编辑　张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net