

神经酰胺与神经细胞增殖

邓同兴 王志新 王敏丽 高晓群

神经鞘脂类是重要的细胞活性调节剂,尤其是神经酰胺被认为是多细胞有机体内重要的脂类细胞信号之一,它参与多种细胞信号转导途径,具有调节细胞生长、分化及增殖,调控细胞的凋亡(包括自噬),参与应激、免疫、炎症等生理功能。本文综述了神经酰胺诱导神经细胞增殖的信号通路及机制方面的研究,以更全面地理解神经酰胺及其产物在神经元中的生理功能及意义,有助于对神经损伤后再生及神经发生机制更进一步的研究,为治疗和预防神经系统疾病引起的神经损伤提供新的治疗方略及方法。

一、神经酰胺

1. 神经酰胺的生成:神经酰胺(ceramide, Cer)由

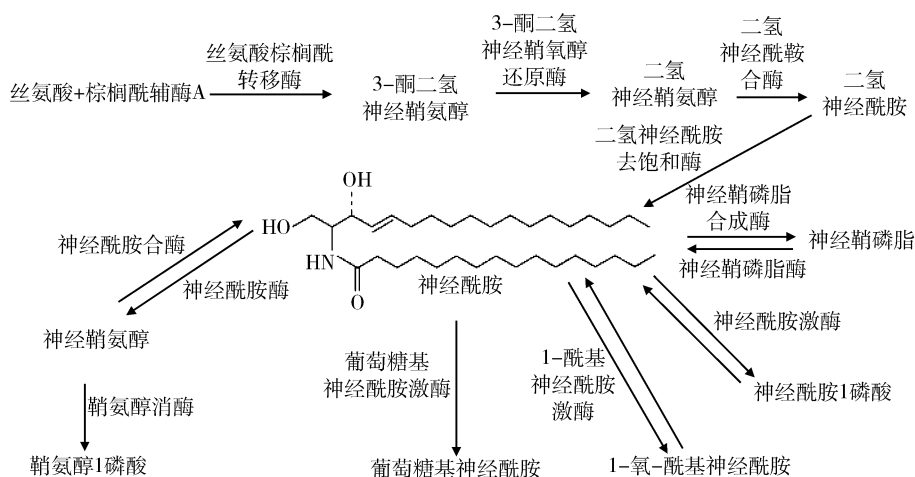


图1 神经酰胺的生成与代谢 (Reynolds C P, 2004)

神经酰胺可以由从头合成或神经鞘磷脂酶反应产生,也可以由神经酰胺-1-磷酸(C1P)生成,其中

各种脂肪酸经N-酰化形成的鞘氨基醇长链(通常是鞘胺醇,二氢鞘胺醇或4-羟双氢鞘胺醇)构成的(图1)^[1]。神经酰胺作为所有神经鞘脂类的骨架结构,它的产生涉及多种介质,包括致炎因子、氧化应激、游离脂肪酸水平的增加及肥胖状态下的脂肪组织等^[2]。机体内游离的神经酰胺含量很少,它们主要以鞘脂的形式存在于细胞内,神经酰胺的分类是由其结构中脂肪酸的碳原子数目而定,在动物体内只含有偶数碳原子的神经酰胺(C_{2-28});Seumois等认为 C_{16} 、 C_{18} 和 C_{24} 神经酰胺与动物脂质代谢和信号转导关系最为密切,其中 C_{16} 和 C_{24} 神经酰胺参与调节机体内细胞增殖和凋亡,而 C_{18} 神经酰胺则抑制细胞的生长^[3]。

从头合成是以丝氨酸和软脂酰为原料,经过缩合反应生成3-酮二氢鞘胺醇,再通过一系列的酶促反应生成神经酰胺,然后参与神经鞘磷脂循环(图1)^[4]。神经酰胺合成神经鞘磷脂需要神经鞘磷脂合成酶(sphingomyelin synthase, SMS)参与, SMS催化神经酰胺和卵磷脂生成甘油二酯和神经鞘磷脂(SM),因此, SMS的活性与神经鞘磷脂合成以及神经酰胺代谢、蓄积等密切相关^[5]。

2. 神经酰胺在神经元增殖中的作用:神经元对神经酰胺生成的生理反应取决于下游信号对神经酰胺

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2003CB515304);国家自然科学基金面上项目(30771140,30670688);河南省卫生厅科技攻关计划(2005158006);河南省教育厅自然科学基金项目(2007180008)

作者单位:450052 郑州大学基础医学院人体解剖学教研室(邓同兴、王志新、高晓群);477150 周口,河南省郸城县人民医院(王敏丽)

通讯作者:高晓群,电子信箱:gxiaoqun@126.com

调节作用的识别,这些下游信号包括 JNK and p38, ERK, MAPK, 转录因子如 caspase 和 NF- κ B 等,其中有些在神经酰胺介导神经元增殖中起着重要作用^[1]。在神经细胞中, JNK 和 p38MAPK 与细胞凋亡有关,而细胞外信号调节激酶(ERK)参与细胞的增殖与分化^[6]。

在哺乳动物体内存在着与神经细胞生长、发育有关的神经营养因子即 β -神经生长因子(β -NGF), 脑源性神经营养因子(BDNF), 神经营养因子-3(NT-3), 神经营养因子-4(NT-4)和睫状神经营养因子(CNTF), 其中 β -NGF 在神经发育过程中起着重要作用, 它可通过 p75NGF 受体诱导神经鞘磷脂水解, 增加神经酰胺的生成^[1,7]。

在海马神经元, 神经酰胺是通过中性神经鞘磷脂酶(N-SMase)对神经生长因子(NGF)的反应生成的, 而不是通过酸性神经鞘磷脂(A-SMase)酶; 由中性神经鞘磷脂酶(N-SMase)作用生成的神经酰胺能激活神经酰胺激活的蛋白激酶(CAPK), 进而启动丝裂原活化蛋白激酶-细胞外信号调节激酶(MAPK-ERK)的级联反应, 诱导细胞的增殖^[1]。海马神经元在后分裂从海马迁移时, 神经酰胺并没有阻止增殖, 但是在神经细胞形成的进程中, 一定程度的刺激会继续导致轴突的形成, 促使神经细胞的代偿增殖^[8]。

二、与细胞增殖有关神经酰胺信号通路

神经酰胺信号通路参与多种细胞信号转导通路, 在不同的细胞中调控不同的细胞效应, 其中介导细胞增殖效应的通路包括丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路和神经酰胺-1-磷酸(C1P)循环通路。

1. MAPK 通路: 丝裂原活化蛋白激酶属于细胞内的一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 其中 MAPK 信号通路是真核细胞中的一个重要信号系统, 能将多种细胞外刺激产生的信号从细胞膜传递到细胞核内, 在细胞的增殖、分化、发育、转化和凋亡过程中起着重要作用^[9]。在多细胞组织中, 细胞增殖的调节是一个复杂的过程, 主要是由周围细胞产生的外部生长因子的调节, 而 MAPK 通路涉及一系列的蛋白激酶的级联反应, 在调节细胞增殖过程中起着至关重要的作用^[10]。该通路主要有 3 条通路组成, 包括 ERK 通路、JNK/SAPK 通路、p38MAPK 通路; 这些通路在细胞信号转导过程中独立存在, 在不同细胞中产生不同的细胞效应。

ERK 通路中 Raf-MEK-ERK 通路反应是经典

的 MAPK 信号通路之一, 受体酪氨酸激酶、G 蛋白偶联受体和某些细胞因子受体都能激活 ERK 信号转导途径; ERK 既能磷酸化胞质蛋白, 又能使一些核转录因子如 c-fos、c-Jun、Elk-1、Ets1/2 和 p53 等磷酸化, 参与细胞增殖与分化的调控^[11]。另外, ERK 也能磷酸化 ERK 信号通路的上游蛋白如 NGF 受体、SOS、Raf-1、MEK 等, 进而对该通路进行负反馈调节^[12]; 磷酸化的 ERK 有 p44MAPK 和 p42MAPK, 也被称为 ERK1 和 ERK2, 它们能调控细胞周期, 促进细胞增殖、有丝分裂及分化, 参与 GAP 交联、肌动蛋白和微管蛋白网及轴突的延伸, 增加酶的活性^[12]。经典的 ERK 家族(p44/42MAPK)是细胞有丝分裂的胞内检测点, 生长因子等激活 p44/42MAPK 后启动有丝分裂, 促使细胞向 G₁/S 期分裂^[13]。激活的 Ras 或 MEK 通过 cyclin D1(一种 G₁/S 期特异表达蛋白)启动因子诱导受体基因的表达, 同时, Raf-MEK-ERK 级联反应调控 Cyclin D-Cdk4/6 复合物的翻译后修饰。因此, Raf-MEK-ERK 信号通路主要负责调控 G₁/S 期的进程, 促进细胞的增殖^[14]。

JNK/SAPK 通路涉及多种生理过程, 但主要参与 caspase-3 通路诱导的细胞凋亡过程, Pedram 等学者研究发现 ERK 与 JNK 交叉反应和 JNK 反应产物能促进内皮细胞生长因子诱导 G₁/S 期的进展和增加细胞的增殖, JNK 最终调节 ERK 刺激细胞的增殖^[15]; 而 p38MAPK 通路主要是调控细胞周期, 参与细胞的凋亡过程^[16]。

2. 神经酰胺-1-磷酸循环通路: 神经酰胺-1-磷酸(C1P)是神经酰胺在神经酰胺激酶作用下经磷酸化生成的一类有生物活性的神经鞘脂类, 参与调控应急状态下的生理功能, 包括抑制细胞凋亡, 调控细胞自噬, 控制炎症及促进细胞增殖等^[17]。在不同的细胞中, C1P 能够促进有丝分裂而抑制细胞凋亡。研究证实, C1P 在巨噬细胞中的主要作用是促进细胞分裂, 其中涉及磷酸肌醇 3 激酶(PI₃K)/蛋白激酶 B(PKB, 也被称为 Akt)的激活, 蛋白激酶 Ca, 以及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2)和 C-Jun-氨基末端激酶(JNK)通路^[18]。

C1P 抑制细胞凋亡, 促进细胞有丝分裂包括两个主要机制^[17]: ①直接抑制酸性神经鞘磷脂酶, 该酶是水解鞘磷脂生成神经酰胺的信号激活酶; ②抑制丝氨酸棕榈酰转移酶, 这是神经酰胺从头合成途径的关键调节酶。这些酶中的任何一种酶被抑制都会引起促凋亡水平的神经酰胺含量减少, 进而阻止凋亡; 此外,

C1P 能通过促进存活 PI₃K/PKB 通路的刺激作用而抑制细胞凋亡;C1P 的其他反应可能对控制细胞增殖或凋亡有重要影响,如细胞钙内流或外流的启动^[19]。最近有研究发现,C1P 能有效地刺激细胞的迁移;C1P 刺激细胞的增殖不依赖受体的相互作用,而是取决于细胞内 C1P 的浓度^[17]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)是 C1P 调控细胞增殖的关键酶之一,它的激活需要先启动 RhoA/ROCK 通路,该反应在 C1P 的促有丝分裂效应中起着重要作用^[20]。

三、蛋白激酶 C α 在神经酰胺信号通路中的作用

蛋白激酶 C α (protein kinase C α , PKC α) 是蛋白激酶 C 家族成员之一,属于经典 Ca²⁺ 依赖型蛋白激酶 C。PKC α 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在不同的刺激作用下,参与调控细胞增殖、分化和凋亡等多种生物学功能^[21]。PKC α 需要激活才能调节细胞功能,其活化机制^[22] 包括:①磷酸化(Thr - 497, Thr - 638, Ser - 657);②与辅助因子结合[磷酸肌醇特异性磷脂酶 C(PLC), 磷脂酰肌醇 - 4,5 - 二磷酸(PIP₂), 肌醇三磷酸(IP₃), 甘油二酯(DAG), Ca²⁺ 等];③细胞内定位(与胞内蛋白结合)。

在不同的细胞类型中,如内皮细胞、癌细胞等,PKC α 激活 Ras - 1 蛋白激酶的磷酸化,导致细胞外调节激酶 - 丝裂原活化蛋白激酶(ERK - MAPK)的级联反应,进而促进细胞的增殖;同时,进一步活化激活蛋白 1(API)的转录活性,通过低分子 GTP 酶 Rho 激酶与 ERK - MAPK 级联反应的相互作用,引导细胞的迁移^[23]。激活的 PKC α 还能增加细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)的表达,促进细胞周期的进程^[24]。

蛋白激酶 C α 在神经酰胺信号通路中也发挥着重要作用,主要参与神经酰胺 - 1 - 磷酸(C1P)循环通路。在该通路中,PKC α 的激活不依赖磷脂酰肌醇或磷酸卵磷脂依赖性磷脂酶 C 前刺激物,但需要神经鞘磷脂合成酶(SMS)的刺激^[17]。抑制 PKC α 的活性会阻断 C1P 诱导细胞的有丝分裂,阻止细胞的增殖^[17]。C1P 能促进 PKC α 在 Ser - 657 残基位点的磷酸化,活化的 PKC α 是诱导细胞增殖的主要刺激物^[25]。PKC α 经 SMS 激活后,进一步通过 C1P 激活 DNA 的合成,同时,激活 MAPK 下游信号 ERK1/2 以及 PKB,共同促进细胞的有丝分裂,诱导细胞增殖^[17]。

四、SMS₂^{-/-} 基因敲除小鼠在研究神经酰胺信号通路中的意义

神经鞘磷脂合成酶是神经鞘磷脂合成的关键酶,

它参与催化磷酸胆碱由磷酸卵磷脂(PC)转移到神经酰胺,生成鞘磷脂和甘油二酯^[26]。SMS 在鞘脂和磷脂代谢过程中处于中心地位,参与调节细胞内甘油二酯和神经酰胺的水平。在哺乳动物基因组中,SMS 有两种同工酶即 SMS₁ 和 SMS₂,其中 SMS₁ 主要集中在高尔基体,而 SMS₂ 主要分布于细胞膜与高尔基体上^[27]。SMS₁ 主要调节细胞内 SM 的水平,参与神经酰胺调控不同细胞功能,以及 Fas 诱导的细胞凋亡;而 SMS₂ 主要参与细胞膜及脂筏 SM 水平及细胞外信号的传递,调节 NFB 的活性^[28]。RNA 干扰诱导的 SMS₁ 或 SMS₂ 的缺失会引起 SM 的合成减少,神经酰胺大量蓄积,增强神经酰胺的细胞效应^[29]。有研究发现,SMS₂^{-/-} 基因敲除小鼠血液 SM 水平降低,患动脉粥样硬化的风险也降低^[30]。

美国纽约州立大学蒋宪成教授以 C57BL/6 小鼠为背景,将 SMS₂ 基因 1.1kb 的内含子 1、0.7kb 的外显子 2 和 6.2kb 的内含子 2 敲除,再通过与 C57BL/6J 小鼠的杂交而得到 SMS₂^{+/-} 小鼠,然后将收获的 SMS₂^{+/-} 小鼠进行互交、回交,最终成功地克隆出神经鞘磷脂合成酶 2 基因敲除鼠(SMS₂^{-/-})^[30]。该系小鼠 SMS₂^{-/-} 基因的缺失,造成神经酰胺在体内蓄积,引起神经酰胺下游信号级联反应的激活,产生不同的细胞效应。该模型的建立不仅有利于研究神经鞘磷脂代谢所致动脉粥样硬化的作用,也为神经酰胺相关的神经细胞增殖与凋亡的研究提供了一个重要的动物模型基础^[30]。

五、总结与展望

总之,神经酰胺作为重要的第二信使,在不同细胞中产生不同的细胞效应,在细胞的增殖、分化及凋亡过程中起着至关重要的作用,并参与某些疾病如肿瘤、白血病等疾病发生发展的病理生理过程。因此,阐明神经酰胺在细胞尤其是神经细胞中的作用机制,有利于完善细胞增殖分化及凋亡等机制的研究,尤其是神经损伤后再生及神经生发机制方面的研究,对于某些疾病的治疗和预防有着重要意义。神经酰胺在诱导一些细胞凋亡的同时,也参与了细胞的增殖、分化过程,但它在神经细胞中的生物效应尚有待进一步的实验论证。

参考文献

- 1 Buccoliero R, Futerman AH. The roles of ceramide and complex sphingolipids in neuronal cell function. *Pharmacological Research*, 2003, 47(5): 409 - 419
- 2 Yang G, Badeanlou L, Bielawski J, *et al.* Central role of ceramide

- biosynthesis in body weight regulation, energy metabolism, and the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 297(1): E211 – E224
- 3 Seumois G, Fillet M, Gillet L, *et al.* De novo C16 – and C24 – ceramide generation contributes to spontaneous neutrophil apoptosis. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(6): 1477 – 1486
- 4 Reynolds CP, Maurer BJ, Kolesnick RN. Ceramide synthesis and metabolism as a target for cancer therapy. *Cancer Lett*, 2004, 206(2): 169 – 180
- 5 Li Z, Hailemariam TK, Zhou H, *et al.* Inhibition of sphingomyelin synthase (SMS) affects intracellular sphingomyelin accumulation and plasma membrane lipid organization. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1771(9): 1186 – 1194
- 6 Grewal SS, York RD, Stork JS. Extracellular – signal – regulated kinase signalling in neurons. *Current Opinion in Neurobiology*, 1999, 9(5): 544 – 553
- 7 Kalish H, Phillips TM. Analysis of neurotrophins in human serum by immunoaffinity capillary electrophoresis (ICE) following traumatic head injury. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2010, 878(2): 194 – 200
- 8 Yang H, Cong R, Na L, *et al.* Long – term primary culture of highly – pure rat embryonic hippocampal neurons of low – density. *Neurochem Res*, 2010, 35(9): 1333 – 1342
- 9 Zhang W, Liu HT. MAPK signal pathways in the regulation of cell proliferation in mammalian cell. *Cell Research*, 2002, 12(1): 9 – 18
- 10 Mutalik VK, Venkatesh KV. Effect of the MAPK cascade structure, nuclear translocation and regulation of transcription factors on gene expression. *Biosystems*, 2006, 85(2): 144 – 157
- 11 Shaul YD, Seger R. The MEK/ERK cascade: From signaling specificity to diverse functions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*, 2007, 1773(8): 1213 – 1226
- 12 Ramos JW. The regulation of extracellular signal – regulated kinase (ERK) in mammalian cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2008, 40(12): 2707 – 2719
- 13 Ussar S, Voss T. MEK1 and MEK2, different regulators of the G1/S transition. *J Biol Chem*, 2004, 279(42): 43861 – 43869
- 14 Chambard JClaude, Lefloch R, Pouyssegur J, *et al.* ERK implication in cell cycle. regulation *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*, 2007, 1773(8): 1299 – 1310
- 15 Pedram A, Razandi M, Levin ER. Extracellular signal-regulated protein kinase/Jun kinase cross – talk underlies vascular endothelial cell growth factor – induced endothelial cell proliferation. *J Biol Chem*, 1998, 273: 26722 – 26728
- 16 Wang Y, Sun LG, Xia CH, *et al.* P38MAPK regulates caspase – 3 by binding to caspase – 3 in nucleus of human hepatoma Bel – 7402 cells during anti – Fas antibody – and actinomycin D – induced apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2009, 63(5): 343 – 350
- 17 Gangoit P, Granado MH, Arana L, *et al.* Activation of protein kinase C – α is essential for stimulation of cell proliferation by ceramide 1 – phosphate. *FEBS Letters*, 2010, 584(3): 517 – 524
- 18 Gangoit P, Granado MH, Wang SW, *et al.* Ceramide 1 – phosphate stimulates macrophage proliferation through activation of the PI3 – kinase/PKB, JNK and ERK1/2 pathways. *Cellular Signalling*, 2008, 20(4): 726 – 736
- 19 Gómez – Muñoz A, Kong JY, Parhar K, *et al.* Ceramide – 1 – phosphate promotes cell survival through activation of the phosphatidylinositol 3 – kinase/protein kinase B pathway. *FEBS Letters*, 2005, 579(17): 3744 – 3750
- 20 Gangoit P, Ouro A, Arana L, *et al.* Involvement of the RhoA/ROCK pathway in the stimulation of cell proliferation by ceramide 1 phosphate. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2010, 163(Supplement 1): S38
- 21 Michie AM, Nakagawa R. The link between PKC α regulation and cellular transformation. *Immunology Letters*, 2005, 96(2): 155 – 162
- 22 Newton AC. Protein kinase C structural and spatial regulation by phosphorylation, cofactors, and macromolecular interactions. *Chem Rev*, 2001, 101(8): 2353 – 2364
- 23 Buitrago CG, Pardo VG, de Boland AR, *et al.* Activation of RAF – 1 through Ras and protein kinase C α mediates 1 α , 25(OH) $_2$ – vitamin D3 regulation of the mitogen – activated protein kinase pathway in muscle cells. *J Biol Chem*, 2003, 278(4): 2199 – 2205
- 24 Soh JW, Weinstein IB. Roles of specific isoforms of protein kinase C in the transcriptional control of cyclin D1 and related genes. *J Biol Chem*, 2003, 278(36): 34709 – 34716
- 25 Bornancin F, Parker PJ. Phosphorylation of protein kinase C – α on serine 657 controls the accumulation of active enzyme and contributes to its phosphatase – resistant state. *J Biol Chem*, 1997, 272(6): 3544 – 3549
- 26 Holthuis J, Vacaru A, Tafesse FG, *et al.* Sphingomyelin synthases: double trouble in the family. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2007, 149(Supplement 1): S8
- 27 Huitema K, Dikkenberg van den, Brouwers HM, *et al.* Identification of a family of animal sphingomyelin synthases. *EMBO J*, 2004, 23(1): 33 – 44
- 28 Hailemariam TK, Huan C, Liu J, *et al.* Sphingomyelin synthase 2 deficiency attenuates NF κ B activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(8): 1519 – 1526
- 29 Tafesse FG, Huitema K, Hermansson M, *et al.* Both sphingomyelin synthases SMS1 and SMS2 are required for sphingomyelin homeostasis and growth in human HeLa cells. *J Biol Chem*, 2007, 282(24): 17537 – 17547
- 30 秦睿, 陈明亮, 朱珂, 等. 神经鞘磷脂合成酶 2 基因的缺失有抗动脉粥样硬化及抗炎作用. *生理学报*, 2010, 64(4): 333 – 338

(收稿: 2010 – 12 – 08)