

脂筏结构在细胞内蛋白质运输中的作用

刘卫霞¹, 祝 贺², 邢艳霞²

(1. 山东中医药大学附属医院核医学科, 山东 济南 250011;

2. 山东农业工程学院, 山东 济南 250100)

【摘要】 在细胞膜中存在由胆固醇、鞘糖脂以及蛋白质等成分组成的液态有序的结构, 叫做脂筏。从内质网到高尔基体再到细胞质膜, 脂筏结构在细胞膜中所占的比例越来越高。脂筏在高尔基体到细胞质膜的物质转运以及细胞内吞、再循环过程中发挥着重要的作用。本文将就脂筏结构在物质从高尔基体到质膜的转运和细胞内吞过程中的作用及其分子机制做一综述。

【关键词】 脂筏; 蛋白质运输; 内质网; 高尔基体; 内吞

【中图分类号】 R329.2⁷ **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2015)21-3179-04

Function of lipid raft in protein transport. LIU Wei-xia¹, ZHU He², XING Yan-xia². 1. Department of Nuclear Medicine, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, Shandong, CHINA; 2. Shandong Agriculture and Engineering University, Jinan 250100, Shandong, CHINA

【Abstract】 The ordered liquid structure composed of cholesterol, glycosphingolipid and protein in cell membrane is called lipid raft. The proportion of lipid raft in cell membrane becomes higher from endoplasmic reticulum to Golgi apparatus and then to plasma membrane. Lipid raft plays an important role in the protein transport from Golgi apparatus to plasma membrane, in endocytosis and recycling. This review will focus on the function and molecular mechanism of lipid raft in the protein transport from Golgi apparatus to plasma membrane and endocytosis.

【Key words】 Lipid raft; Protein transport; Endoplasmic reticulum; Golgi apparatus; Endocytosis

大多数真核细胞的细胞器膜由多种脂质和蛋白质构成, 这个膜将细胞器与胞浆隔离开来。由于这些膜是细胞器与胞浆的隔离面, 所以这个膜中的蛋白质和脂质等成分分子组成和排序对于该细胞器功能的完成非常重要。

大家都知道, 在细胞内的物质运输中, 囊泡发挥着重要的作用。关于转运囊泡产生的机制, 通常认为“外壳蛋白”(Coat protein)会产生多个直径小于100 nm的泡状中间体。这些泡状物能够对蛋白质进行分类和运输, 如COP I和COP II (Coat protein complexes)介导的内质网和早期高尔基体之间的物质运输、分泌的囊泡形成以及内吞过程。另一个囊泡产生的装置是ESCRT, 它不利用外被中间体(Coated intermediate), 但也在囊泡裂解过程中发挥作用, 如内吞、病毒出芽和膜修复^[1]。这些机制对于转运囊泡的产生是必不可少的。而囊泡正确地定位到细胞器并与相应的膜融合需要其他因素的帮助。这些功能有一部分是由SNAREs蛋白复合体完成的。这一蛋白复合体决定转运囊泡什么时候在什么位置与膜融合^[2]。除了SNAREs蛋白复合体这一关键机制外, 很多的辅助蛋白如适配蛋白(Adaptor protein)选择性地特殊蛋白带到转运囊泡^[3], 而Rab GTP酶为多种细胞器充当“地址标记”, 以利于囊泡的定位^[4]。

我们对蛋白质在细胞器的运输机制研究和了解的比较多, 而对于脂质在细胞膜中的分布了解的比较少。在脂质分选中发挥重要作用的是有不同组成的膜上的结构域, 这些结构域中典型的例子是脂筏结构。脂筏是由几种特异的脂质包括胆固醇、鞘糖脂、饱和脂质与蛋白质相互作用形成的组合体, 这个组合体是一种液态有序的结构, 它与周围流动性的液态结构不同。长久以来盛行的观点认为脂筏是一种大的稳定的结构是不正确的, 现在认为脂筏是高度变化的^[5]。关于脂筏的特征、组成等有不同的认识, 最近通过液-液相分离技术在显微镜下观察到在细胞膜上确实存在脂筏结构, 这些脂筏结构的直径在几百纳米以上, 它们能够使脂质和蛋白质藏在其中, 这使得脂筏结构在膜的转运中能够发挥分选的作用。

1 脂筏假说的由来

早期对上皮细胞的生物学观察发现其质膜顶端蛋白质和脂质的组成与侧面和基底面不同, 比如质膜顶端脂质中含有丰富的鞘糖脂、胆固醇, 但缺乏甘油磷脂。人们发现糖基化蛋白和脂质从高尔基体的反转面(TGN)到质膜的运输是同时进行的, 表明这是一个TGN介导的过程。后来人们发现从TGN产生不同的囊泡类型, 这些不同类型的囊泡包含不同的货物(蛋白质)运往质膜的顶端或侧面和基底面。基于神

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31171088)

通讯作者: 刘卫霞。E-mail: pumcw@yaho.com

神经鞘脂能够通过氢键相互作用,有人推测神经鞘脂和蛋白质分离到一个结构域中,最终一起运输到质膜的顶端或侧面和基底面。后来人们发现在细胞膜上存在对非离子型去污剂相对有抵抗力的微结构域,我们把这种从 TGN 到质膜运输蛋白质的由特异的脂质成分组成的结构叫做脂筏^[6]。

2 脂筏在上皮细胞向质膜顶端进行物质运输中的作用

实验发现抑制胆固醇和鞘脂的合成都会抑制脂筏对蛋白质的转运,已经发现蛋白质的糖基化和脂化都有利于蛋白质被脂筏向质膜顶端的运输。这些修饰包括 N-糖基化、O-糖基化和 S-酰化(如棕榈酰化)^[7],然而后来有人发现对于脂筏结构在蛋白质向质膜顶端转运中发挥的中心作用提出了质疑。比如不是所有的糖磷脂酰肌醇(GPI)锚定蛋白都被运输到质膜顶端,即使它是脂筏运载的^[8]。而且破坏脂筏结构并不总是导致蛋白质运输错误。为了解释这些现象,人们提出了新的假设:小的动态的脂筏结构可以在蛋白质的作用下形成大的聚合体。后来发现有证据证明这一假设。有作者发现在上皮细胞质膜顶端的 GPI 锚定蛋白呈聚合状态,而这些蛋白在质膜的基底面和侧面都呈单体^[8]。这些聚合体好像一到达质膜就分散成单体或二聚体。

看起来脂筏结构是蛋白质向质膜顶端运输的一个主要介导结构,所以我们推测细胞膜是一个富含脂筏的结构。已经有实验证实上皮细胞质膜顶端是一个脂筏结构的连续体,这个连续体被少量的非脂筏结构打破^[9]。而非极性细胞与之不同。非极性细胞的质膜是一种连续的非脂筏状态,在其中有少量的脂筏。但是关于脂筏结构在两类细胞中的含量尚无定论。

现在越来越多的发现表明脂筏样的结构可能在内质网中就形成了。内质网中的胆固醇含量比较低(小于 5 mol%),但从内质网到高尔基体再到质膜,胆固醇的含量越来越高,到质膜达到 40~50 mol%。同样鞘脂的糖基化也是如此。这些变化导致从内质网到质膜厚度越来越厚,越来越容易检测到脂筏样结构的存在^[10]。

3 脂筏在细胞内吞过程中的作用

细胞内膜的运输人为地分为向外分泌和内吞。事实上生物合成途径和内吞体/溶酶体之间可以互换。即内吞的成分也可以回到高尔基体,重新回到质膜。网格蛋白(Clatrin)介导的内吞和囊泡形成是真核细胞最重要的特征,因此网格蛋白介导的内吞过程是研究的最完整的细胞过程^[11]。后来发现细胞内还存在脂筏介导的内吞过程。这两个过程是相互排斥的(尽管有例外)。脂筏介导的内吞对于质膜胆固醇

的减少敏感,而网格蛋白介导的内吞过程对胆固醇的减少不敏感。所以推测可以简单地把质膜内吞的过程分两种:网格蛋白介导的非脂筏结构的内吞和脂筏介导的内吞。

在脂筏介导的内吞过程中起重要作用的是胞膜穴样凹陷(Caveolae)^[12],它是脂筏介导的内吞途径的中间体。除此之外,还发现细胞内存在不依赖网格蛋白的非 Caveolae 介导的内吞途径,最突出的例子是 CLIC/GEEC 系统(Clatrin-independent carriers, CLIC/GPI-enriched endocytic compartments, GEEC)。这一途径可以介导 GPI-锚定蛋白和鞘糖脂-结合毒素的内吞。这个过程不依赖 Caveolae 和网格蛋白^[13]。许多证据已经证明 CLIC-GEEC 途径与脂筏有关,然而它的具体过程尚不清楚^[14]。另外发现小分子蛋白 Arf6 也介导脂筏相关的货物从内吞体向质膜的再循环^[15]。最近的研究还发现一种内吞过程叫做大规模内吞(Massive endocytosis, MEND)。这一内吞过程是由细胞内瞬时的钙离子浓度升高引起的,在大约几分钟之内 50%的质膜就被内吞,推测这种内吞是由于脂筏结构的聚集引起的^[16]。

4 脂筏在内体降解和内体再循环中的作用

质膜内吞之后,内体有两个去处:一是到溶酶体被降解;二是再循环到质膜。在这个过程中脂筏主要参与初级内体的形成。初级内体的结构包含类似再循环内体的网状小管和类似于次级内体的多泡状结构。初级内体和再循环内体都富含胆固醇、鞘磷脂和磷脂酰丝氨酸以及 Caveolin。但是这些成分在次级内体中含量很少^[17]。所以人们推测脂筏介导初级内体-再循环内体-质膜的再循环过程。最近 Diaz-Rohrer 等的实验证实了这一点,将质膜上的一种跨膜蛋白造成一系列的突变,使其对脂筏有不同程度的亲和力,即从“不与脂筏结合”到“在脂筏中聚集”等一系列的状态。结果发现该蛋白质在质膜上的定位与其对脂筏的结合程度有很大关系。所有与脂筏结合的蛋白质突变体都在质膜中聚集,而失去脂筏结合特性的蛋白质突变体都聚集在次级内体和溶酶体中。对此, Diaz-Dohrer 等^[18]的解释是所有的质膜蛋白都被内吞,如果该蛋白质能够与脂筏紧密结合,它将通过再循环内吞体再循环到质膜,如果该蛋白质不在脂筏中富集,它将通过次级内体和溶酶体被降解。此外 Mobius 等^[19]发现在次级内体和溶酶体的多泡状结构的腔面小泡是富含胆固醇的。但是脂筏结构在次级内体的腔面聚集导致溶酶体代谢功能异常。表现为溶酶体的增殖、肥大和严重的神经元功能障碍。比如鞘脂代谢障碍性疾病 Fabry 病、尼曼-匹克病和 Tay-Sachs 病。经常发现在这些患者的细胞中脂筏成分(神经鞘脂、糖脂、胆固醇)在溶酶体中聚集,在这些

患者的细胞内发现大量溶酶体的聚集^[20]。

5 脂筏介导的物质运输的分子机制

在脂筏介导的运输中,小分子蛋白质成分起着重要的作用,包括 Caveolin、Flotillin、Caveolae 以及 Arf6 等^[18],这些小分子蛋白都参与细胞的内吞过程。

5.1 小分子蛋白 Caveolin、Flotillin 在脂筏运输中的作用 与脂筏介导的运输关系最密切的是 Caveolin。最初发现这种蛋白是 v-Src 的磷酸化底物,因而与肿瘤的发生有关,后来发现这一蛋白是膜内陷小泡(Caveolae)的重要组成成分,在上皮细胞向质膜顶端的运输中发挥重要的作用^[21]。Caveolin 与胆固醇直接结合,而且它的功能受胆固醇存在与否的影响,也就是说,消除胆固醇会影响 Caveolin 的功能。Caveolin 多聚化后仅与富含脂筏的膜结构结合,这暗示出 Caveolin 的多聚化可能与脂筏的聚集和发挥功能有关^[22]。在脂筏聚集中另一个起重要作用的蛋白是 Flotillin。与 Caveolin 不同,这种蛋白不是膜内在蛋白,它需要脂质修饰才能与膜结合。但与 Caveolin 相似,Flotillin 能够相互聚合,从而参与内吞过程^[23]。已经发现上皮细胞中 GPI-锚定蛋白和霍乱毒素的内吞过程中需要 Flotillin 的参与^[24]。

5.2 小分子蛋白 Arf6 在脂筏运输中的作用 除了上述 Caveolin 和 Flotillin 蛋白外,有许多辅助因子在脂筏对目的膜区的识别和融合中发挥重要作用,其中研究的最清楚的是属于 Ras 家族的小 GTP 酶 Arf6。GTP 的水解在细胞骨架和细胞膜的动态变化中发挥重要作用。在脂筏介导的运输中,Arf 家族的许多成员尽管不能作为包被蛋白直接发挥作用,但是它能够与网格蛋白和其他连接蛋白(Adaptor protein)结合,从而发挥包被蛋白的作用。与其他 Arf 蛋白不同,Arf6 位于质膜和初级内体,参与脂筏介导的内吞和再循环,在这个过程中 Arf6 参与的是非网格蛋白/非内陷小泡介导的 GPI-锚定蛋白的内吞过程^[25]。Arf6 的这一作用对淀粉样蛋白前体(APP)的加工过程非常重要。而 Alzheimer 病的突出表现就是淀粉样蛋白的聚积^[25]。除了以上这几种小分子蛋白外,SNAREs 蛋白复合体在脂筏小泡与膜的融合中发挥重要的作用。

总之,脂筏结构在细胞膜内蛋白质从内质网到高尔基体再到细胞质膜的运输过程中发挥着重要的作用,在细胞内吞、再循环和进入溶酶体的过程中也发挥着重要的作用。但具体的机制仍不清楚。希望能通过对功能性膜蛋白的重建的研究和对脂筏结构认识的深入对脂筏介导的运输机制有更深一步的认识。

参考文献

- [1] Jimenez AJ, Maiuri P, Lafaurie-Janvore J, et al. ESCRT machinery is required for plasma membrane repair [J]. *Science*, 2014, 343(6174): 1247-136.
- [2] Sudhof TC, Rothman JE. Membrane fusion: grappling with SNARE and SM proteins [J]. *Science*, 2009, 323(5913): 474-477.
- [3] Schwake M, Schröder B, Saftig P. Lysosomal membrane proteins than their central role in physiology [J]. *Traffic*, 2013, 14(7): 739-748.
- [4] Egami Y, Taguchi T, Maekawa M, et al. Small GTPases and phosphoinositides in the regulatory mechanisms of macropinosome formation and maturation [J]. *Front Physiol*, 2014, 5: 374.
- [5] Lingwood D, Simons K. Lipid rafts as a membrane-organizing principle [J]. *Science*, 2010, 327(5961): 46-50.
- [6] Surma MA, Klose C, Simons K. Lipid-dependent protein sorting at the trans-Golgi network [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1821(8): 1059-1067.
- [7] Levental I, Grzybek M, Simons K. Greasing their way: lipid modifications determine protein association with membrane rafts [J]. *Biochemistry*, 2010, 49(30): 6305-6016.
- [8] Paladino S, Sarnataro D, Pillich R, et al. Protein oligomerization modulates raft partitioning and apical sorting of GPI-anchored proteins [J]. *J Cell Biol*, 2004, 167(4): 699-709.
- [9] Meder D, Moreno MJ, Verkade, et al. Phase coexistence and connectivity in the apical membrane of polarized epithelial cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(2): 329-334.
- [10] Gerl MJ, Sampaio JL, Urban S, et al. Quantitative analysis of the lipidomes of the influenza virus envelope and MDCK cell apical membrane [J]. *J Cell Biol*, 2012, 196(2): 213-221.
- [11] McMahon HT, Boucrot E. Molecular mechanism and physiological functions of clathrin-mediated endocytosis [J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2011, 12(8): 517-533.
- [12] Parton RG, del Pozo MA. Caveolae as plasma membrane sensors, protectors and organizers [J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2013, 14(2): 98-112.
- [13] Posor Y, Eichhorn-Grünig M, Haucke V. Phosphoinositides in endocytosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1851(6): 794-804.
- [14] Chaudhary N, Gomez GA, Howes MT, et al. Endocytic crosstalk: caveolins, caveolins, and caveolae regulate clathrin-independent endocytosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e100554.
- [15] Hongu T, Kanaho Y. Activation machinery of the small GTPase Arf6 [J]. *Adv Biol Regul*, 2014, 54: 59-66.
- [16] Hilgemann DW, Fine M, Linder ME, et al. Massive endocytosis triggered by surface membrane palmitoylation under mitochondrial control in BHK fibroblasts [J]. *Elife*, 2013, 2: e01293.
- [17] Hao M, Lin SX, Karylowski OJ, et al. Vesicular and non-vesicular sterol transport in living cells. The endocytic recycling compartment is a major sterol storage organelle [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(1): 609-617.
- [18] Diaz-Rohrer B, Levental K, Simons K, et al. Membrane raft association is a determinant of plasma membrane localization [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(23): 8500-8505.
- [19] Mobius W, van Donselaar E, Ohno-Iwashita Y, et al. Recycling compartments and the internal vesicles of multivesicular bodies harbor most of the cholesterol found in the endocytic pathway [J]. *Traffic*, 2003, 4(4): 222-231.
- [20] Lloyd-Evans E, Platt FM. Lipids on trial: the search for the affend-

Yb-1 在肿瘤发展中的两面性

孙丽萍 综述, 胡新荣 审校
(广东医学院, 广东 东莞 523770)

【摘要】 Yb-1(Y-box binding protein-1)基因属于Y-盒家族成员之一,从细菌到人类的细胞质及细胞核中广泛存在,并且它编码的蛋白是一类高度保守的多功能蛋白。Yb-1蛋白含可变N-末端结构域(AP区)、C末端结构域(CTD区)及高度保守核苷酸结合结构域(CSD区)。这些结构域对DNA或RNA的作用不同,导致YB-1对细胞功能调控的不一致性。多数研究报道YB-1能促进肿瘤的增殖、侵袭与转移以及多药耐药性,但也有研究表明YB-1具有抑制肿瘤的作用。本文就YB-1对肿瘤的双重作用做一综述。

【关键词】 YB-1;肿瘤;增殖;EMT;多药耐药性

【中图分类号】 R730.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2015)21-3182-05

Yb-1 (Y-box binding protein-1) 是Y-盒家族成员之一,是一种从细菌到人类的细胞中广泛存在的高度保守、功能多样的蛋白质。研究表明YB-1在多种肿瘤组织中高表达并与肿瘤的发生发展、侵袭转移、耐药、预后等密切相关。多数情况下,YB-1作为一种促癌蛋白被广泛研究,但也有研究发现YB-1可以抑制肿瘤的过度增殖。然而,导致YB-1双重作用的相关因素和分子机制是相当复杂的,需要更多研究。充分了解其对肿瘤的详细作用和机制,才能更准确地防治肿瘤。

1 YB-1的结构与生物学功能

YB-1可以与Y-box序列5'-CTGATTGG-3'特异性结合,进而在转录水平和翻译水平对下游基因转录进行调控。YB-1基因定位于染色体1p34(25,26),跨越19 kb染色体DNA,蛋白分子量为42 kDa,包含8个外显子^[1]。其编码的蛋白含三个典型的结构域:可变N-末端结构域(AP区)、C末端结构域(CTD区)及高度保守的核苷酸结合结构域(CSD区)^[2]。AP区富含丙氨酸和脯氨酸,可以与转录起始复合物eIF4F中的

蛋白质特异性的结合,参与基因的转录调控;CSD区通过其RNA结合序列RNP1和RNP2与mRNA特异性地结合,进而发挥对mRNA的稳定作用;CTD区包含相互交替的中性和碱性氨基酸区域,可以与非特定的DNA或RNA相互作用,在翻译起始阶段调控mRNA的翻译^[3]。YB-1在翻译水平有正性调控和负性调控的双重作用。并且研究已经表明,这种作用与其本身浓度无关,而是取决于YB-1/mRNA的相对比值。当YB-1/mRNA比值较低时,YB-1能完全结合mRNA的5'帽端,激活翻译的起始;当比值较高时,YB-1与真核翻译起始因子eIF4E竞争结合mRNA的5'帽端,抑制翻译的起始,同时维持mRNA的稳定性。此外,Yb-1的这种双重作用与其结构域作用的不同有一定的关系。AP-CSD结构域取代eIF4E和eIF4A与mRNA结合,稳定了mRNA,但不影响翻译活性^[4];CTD区取代eIF4G结合mRNA,抑制翻译的起始,但不影响mRNA的稳定性。研究表明,YB-1对基因的转录、翻译、DNA损伤后修复、RNA配对、mRNA稳定、细胞增殖和再生等发挥了重要的作用^[5]。

基金项目:广东省自然科学基金(编号:2014A030313536)

通讯作者:孙丽萍。E-mail:1009202758@qq.com

ing metabolite in Niemann-Pick type C disease [J]. Traffic, 2010, 11 (4): 419-428.

[21] Walser PJ, Ariotti N, Howes M, et al. Constitutive formation of caveolae in a bacterium [J]. Cell, 2012, 150(4): 752-763.

[22] Diaz-Rohrer B, Levental KR, Levental I. Rafting through traffic: Membrane domains in cellular logistics [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1838(12): 303-313.

[23] Babuke T, Ruonala M, Meister M, et al. Hetero-oligomerization of reggie-1/flotillin-2 and reggie-2/flotillin-1 is required for their endocytosis [J]. Cell Signal, 2009, 21(8): 1287-1297.

[24] Ait-Slimane T, Galmes R, Trugnan G, et al. Basolateral internalizai-

ton of GPI-anchored proteins occurs via a clathrin-independent flotillin-dependent pathway in polarized hepatic cells [J]. Mol Biol Cell, 2009, 20(17): 3792-3800.

[25] El-Sayed A, Harashima H. Endocytosis of gene delivery vectors: from clathrin-dependent to lipid raft-mediated endocytosis [J]. Mol Ther, 2013, 21(6): 1118-1130.

[26] Sannerud R, Declerck I, Peric A. ADP ribosylation factor 6 (ARF6) controls amyloid precursor protein (APP) processing by mediating the endosomal sorting of BACE1 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(34): E559-568.

(收稿日期:2015-05-27)