

星形胶质细胞和神经元之间 谷氨酸 \rightarrow 谷氨酰胺的代谢偶联³

杨晓运¹ 李 智¹ 秦绿叶² 于常海^{1,2}

(¹ 中国科学院上海生物工程研究中心, 上海 200233; ² 北京大学神经科学研究所, 北京 100083)

摘要 谷氨酸 \rightarrow 谷氨酰胺循环是星形胶质细胞和神经元代谢偶联最重要的途径之一。在中枢神经系统中葡萄糖经糖酵解和三羧酸循环, 合成三羧酸循环的中间产物。神经元因缺乏丙酮酸羧化酶, 不能由葡萄糖直接合成谷氨酸, 而必须依赖于星形胶质细胞的三羧酸循环来产生作为谷氨酸前体的三羧酸循环中间代谢产物。星形胶质细胞的谷氨酸载体从突触间隙摄取谷氨酸, 在星形胶质细胞中转变成谷氨酰胺并释放到细胞外, 然后重新被神经元摄取, 转变成谷氨酸进入新一轮的循环。本文介绍了该循环, 以及星形胶质细胞谷氨酸载体的功能、特性及调控。

关键词 星形胶质细胞; 谷氨酸 \rightarrow 谷氨酰胺循环; 谷氨酸代谢; 谷氨酸载体

学科分类号 Q421

大脑中神经细胞最大的特点就是互相联系以及沿着特定的途径进行信息传递。更好地了解神经元的相互作用机制对于阐明大脑生物学功能的基础十分重要, 而大脑中其他类型细胞之间以及其他类型的细胞与神经元的联系研究者较少。大脑中另一主要的细胞类型——星形胶质细胞与神经元紧密相邻, 神经元及其突起之间的空隙几乎全部由星形胶质细胞填充。星形胶质细胞有多种与神经元相同的离子通道和神经递质受体, 因此它为大脑中多种细胞间的相互联系提供了另一条重要途径。

在中枢神经系统(central nervous system, CNS)中, 星形胶质细胞有许多功能, 其中一些是由从神经元中释放的神经递质所激发的。星形胶质细胞通过受体对神经递质做出反应, 并且摄取一部分递质来结束突触过程^[1]。在哺乳动物 CNS 中, 谷氨酸是最主要的兴奋性神经递质, 也是一种潜在的神经毒素, 引起的兴奋毒性可能导致神经细胞的死亡。为保持突触传递的敏感性, 谷氨酸必须被迅速及时地清除, 从胞外清除谷氨酸主要是由载体介导的摄取完成的。在 CNS 中, 有许多细胞类型能表达谷氨酸载体。其中, 星形胶质细胞的摄取是保持胞外谷氨酸浓度稳定的最主要途径。虽然神经元和星形胶质细胞都表达谷氨酸载体, 摄取谷氨酸, 但两者的摄取能力不同, 星形胶质细胞远远高于神经元。根据神经元和星形胶质细胞不同的谷氨酸载体类型, 利用反义核酸技术选择性抑制星形胶质细胞 GLAST (glutamate/aspartate transporter), GLT2 (glutamate transporter) 载体或者神经元 EAAC (essential amino

acid transporter) 载体的表达, 结果表明当抑制星形胶质细胞谷氨酸载体表达时, 细胞外谷氨酸的浓度剧增, 导致神经元因兴奋毒性而退化^[2]。无论结构上还是功能上, 星形胶质细胞都是大脑血脑屏障的重要组成部分。实验表明在大脑贫血时, 神经元会释放大量的谷氨酸, 星形胶质细胞能够积累谷氨酸来保护神经元不受损伤, 从而保持细胞外的谷氨酸浓度低于产生毒性的水平(Hertz 等, 1997)。但如果此时星形胶质细胞遭到损伤, 或功能被抑制, 细胞外的谷氨酸就会大量积累引起神经元过度兴奋而导致死亡。亚显微结构分析表明, 星形胶质细胞的谷氨酸载体大多集中在面对突触区域的膜附近, 而神经元的谷氨酸载体——EAAC 1 位于神经突触后膜的胞外突触膜上, 并且集中在突触的颈部而非突触的顶端(图 1)^[2]。由于两者载体的位置不同, 只有当谷氨酸溢出时, 神经元的谷氨酸载体才发挥作用, 而星形胶质细胞的摄取则是清除突触间隙谷氨酸的主要途径^[3]。因此, 星形胶质细胞摄取谷氨酸对于避免由递质介导的兴奋毒性很关键, 它防止了过量的谷氨酸扩散到周围神经元上, 进而避免了神经元的过度兴奋, 对神经元起保护作用。

一、谷氨酸 \rightarrow 谷氨酰胺循环

星形胶质细胞和神经元是代谢偶联的, 其中最重要的途径之一是谷氨酸 \rightarrow 谷氨酰胺循环。研究表明, 谷氨酸 \rightarrow 谷氨酰胺循环并不是完全封闭的^[4]。因为谷氨酸不能穿过血脑屏障, 所以在 CNS 中谷氨酸

国家自然科学基金(30274026)和北京市自然科学基金(7032026)资助课题

是葡萄糖经糖酵解和三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle, TCA cycle), 由 TCA 的中间物合成的 (图 1)。在此过程中需丙酮酸羧化酶, 但该酶在神经元中不存在, 而大量存在于星形胶质细胞中并有功能性活性。谷氨酸由 2 酮戊二酸通过转氨作用形成, 并由丙氨酸, 或其它支链氨基酸, 如亮氨酸, 异亮氨酸或缬氨酸提供氨基。谷氨酸最终经氧化脱氨降解, 所以这些氨基酸对于补充流出 CNS 的氨基非常重要 (于常海等, 1983)。丙氨酸不能穿过血脑屏障, 在星形胶质细胞中它由丙酮酸通过转氨作用形成, 在神经元中它又重新转变成丙酮酸并最终氧化降解。

谷氨酰胺的合成是谷氨酸 \rightarrow 谷氨酰胺循环的重要部分。合成反应由谷氨酰胺合成酶催化, 该酶只存在于星形胶质细胞, 在少突胶质细胞中很少, 神经元中不存在, 因此它是星形胶质细胞的标志性酶。星形胶质细胞迅速摄取细胞外的谷氨酸^[5], 谷氨酸载体和谷氨酰胺合成酶在星形胶质细胞中的重叠分布表明, 在突触位置摄取释放的谷氨酸和在星形胶质细胞中转变为谷氨酰胺是紧密联系的^[6]。谷氨酰胺从星形胶质细胞释放作为谷氨酸的前体在神经元中积累, 在突触前末端转变成谷氨酸, 进入小泡准备新一轮的兴奋反应 (图 1)。谷氨酸前体的返回保持了谷氨酸能神经元的谷氨酸水平。由于谷氨酸不能穿过血脑屏障, 所以多余的谷氨酸必须通过 TCA 氧化降解后再从 CNS 中排出, 多余的谷氨酰胺经水解变成谷氨酸后也以相同的途径氧化降解。

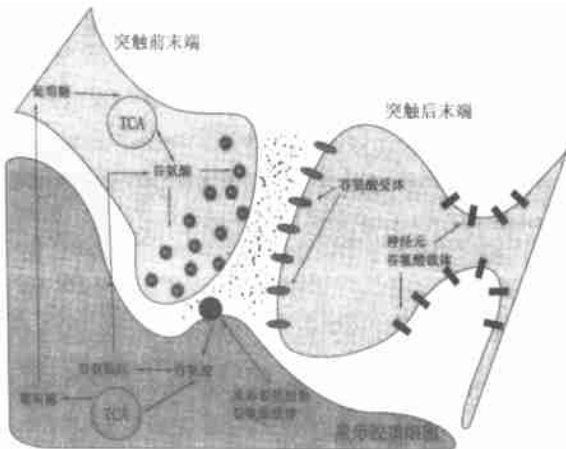


图 1 谷氨酸 \rightarrow 谷氨酰胺循环示意图

二、星形胶质细胞的谷氨酸载体

星形胶质细胞摄取谷氨酸有不依赖 Na^+ 和依赖 Na^+ 的两个系统介导, 其中 Na^+ 依赖系统对谷氨酸有更高的亲和力并且在中枢神经系统中占有主导地位。星形胶质细胞中 Na^+ 依赖系统的谷氨酸载

体首先是从大鼠脑组织中分离获得的, 命名为 GLT1 和 GLAST^[7]。大脑中细胞外的谷氨酸浓度一般维持在几个微摩尔左右, 而细胞质中根据细胞类型的不同谷氨酸的浓度从 1 到 10 毫摩尔不等。GLT1 和 GLAST 逆浓度梯度摄取谷氨酸, 并伴有顺着各自浓度梯度的 K^+ 、 Na^+ 运输, 从而把谷氨酸和 H^+ 运入细胞。转运一个谷氨酸分子的同时细胞内增加两个单位的正电荷, 因此膜势能也是推动力的一部分 (图 2)。实验表明, Na^+ 依赖系统把 3 个 Na^+ 和 1 个 H^+ 运入细胞, 与它相对的载体则运出 1 个 K^+ , 同时有一分子的谷氨酸被细胞摄取, 星形胶质细胞中 Na^+ 浓度的升高激活了 Na^+/K^+ ATP 泵 (Levy 等, 1998)。

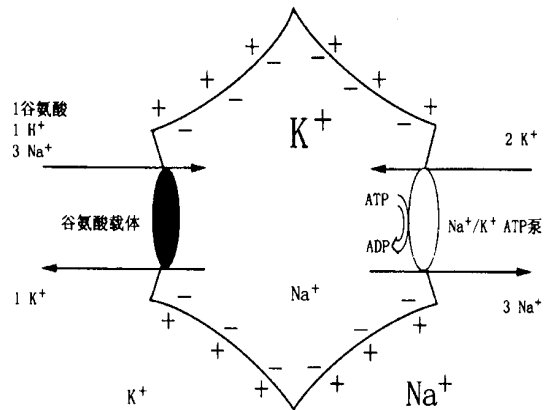


图 2 谷氨酸及 Na^+ 、 K^+ 协同转运 (图中 Na^+ 、 K^+ 字体的大小代表浓度的高低)

三、载体的调控

载体表达的改变或载体活性的改变都能调节谷氨酸的摄取^[8]。 Na^+ 依赖的谷氨酸载体的活力是由 Na^+ 、 K^+ 和 H^+ 浓度以及膜势能等热力学因素控制的。动力学因素引起载体自身的变化或其环境的变化影响了载体的亲和力和转运速度。

(一) 热力学因素 1 分子谷氨酸运输的同时, 有 3 个 Na^+ 和 1 个 H^+ 进入星形胶质细胞, 1 个 K^+ 流出星形胶质细胞 (图 2)。热力学平衡式 (Rudnick 等, 1998) 可以用来表示细胞外和细胞内的谷氨酸浓度比。热力学平衡式表明, 摄取谷氨酸的热力学推动力来自于 ATP 的水解, 降低星形胶质细胞中 ATP 的水平会影响谷氨酸的摄取, ATP 的完全耗尽将导致谷氨酸摄取的停止。在星形胶质细胞中, 氧的耗竭或线粒体功能降低, 引起 ATP 部分减少, 导致谷氨酸载体的摄取能力部分下降 (Swanson 等, 1998)。由此可见, 大脑缺氧或暂时氧化代谢受到阻碍时不至于造成兴奋性毒性的损伤是因为星形胶质

细胞在此种条件下仍可摄取谷氨酸来保持其浓度低于产生毒性的水平 (Miyamoto 等, 2000)。同时, 热力学平衡式表明, 胞外 K^+ 浓度的升高或胞内 Na^+ 浓度的升高也会导致推动力的下降。但是在星形胶质细胞中, 细胞外 K^+ 、 Na^+ 浓度的变化对谷氨酸的摄取几乎没有影响, 甚至有相反的作用 (Longuemare 等, 1997)。可能性最大的原因是, 载体并不在热力学平衡位置处作用, 细胞内外谷氨酸浓度的差距可能比热力学平衡式估计的更小, 这就为动力学上推动力的改变提供了一个缓冲。例如, 当细胞外 K^+ 浓度改变时, 细胞外谷氨酸的浓度也会产生相应的变化, 削弱了载体保持平衡的作用, 因此, 载体的调控除了热力学因素外还有动力学因素。

(二) 动力学因素 载体氨基酸残基的磷酸化会影响载体的活性。在 GLT1 和 GLAST 中都有蛋白激酶 C 的磷酸化位点。用 GLT21 转染 HEK293 细胞, 激活蛋白激酶 C 使载体 113 位的丝氨酸磷酸化, 载体移动的速度增加 50%。此外也有发现, 蛋白激酶 C 通过减少 GLT21 对谷氨酸的亲合力来抑制 GLT21 的活性 (Ganel 等, 1998)。在培养的贝格曼 (Bergmann) 胶质细胞中, 有集中的 GLAST 免疫荧光反应, 激活蛋白激酶 C 后, 谷氨酸摄取的速度明显降低 (Gonzalez 等, 1997), 在表达 GLAST cDNA 的 HEK293 细胞和 *Xenopus* 卵母细胞中都有相同的结果 (Conradt 等, 1997)。最近有实验表明, 蛋白激酶 C 的激活导致星形胶质细胞中 GLAST 活力的减少, 是因为细胞内 GLAST 快速螯合而造成细胞内“堵塞” (Correale 等, 1998) 所致。

另一种调节机制是氧化还原因子与载体巯基相互作用。星形胶质细胞的谷氨酸载体, GLT21 和 GLAST 都有功能性的胱氨酸残基, 它们对于氧化反应很敏感, 与过氧化氢 (H_2O_2)、一氧化氮 (NO)、过氧化物阴离子 ($O_2^{\cdot -}$) 等反应形成的二硫键阻碍了依赖于该途径的谷氨酸摄取 (Trotti 等, 1998)。

Zn^{2+} 和花生四烯酸通过与载体蛋白的直接作用也能调控星形胶质细胞的谷氨酸载体。 Zn^{2+} 通过与载体蛋白的组氨酸残基相互作用, 从而选择性地抑制星形胶质细胞 GLAST 载体对谷氨酸的摄取 (Vandenberg 等, 1998), 这就增加了在大脑贫血时 Zn^{2+} 的释放阻碍星形胶质细胞对谷氨酸的摄取导致了神经元死亡的可能性。花生四烯酸对 GLAST 和 GLT21 的作用不同, 它降低 GLAST 摄取谷氨酸的速度, 增加 GLT21 对谷氨酸的亲合力。一个较新且有较快发展的领域是谷氨酸载体螯合, 或与载体

相关的蛋白结合从而发生功能性的改变。

四、结语

谷氨酸2谷氨酰胺循环不是一个完全封闭的循环。由于谷氨酸不能穿过血脑屏障, 它必须由三羧酸循环的中间产物直接合成。在星形胶质细胞中谷氨酸被转化为谷氨酰胺, 谷氨酰胺作为谷氨酸的前体转运到神经元中又重新合成谷氨酸。中枢神经系统中谷氨酸的摄取主要是由星形胶质细胞通过 Na^+ 依赖的载体来完成, 摄取谷氨酸的同时有 Na^+ 、 K^+ 的输入和输出。载体的活性可以从许多水平进行调控, 包括蛋白的表达, 蛋白的某些氨基酸残基的磷酸化, 以及其它的直接修饰。与神经元相比, 星形胶质细胞对谷氨酸有更高的亲和力, 它及时清除了胞外的谷氨酸, 防止过量的谷氨酸扩散到周围的神经元中引起兴奋性毒性。虽然在过去的十几年中研究者对于星形胶质细胞的研究取得了一定的成就, 但要进一步了解其功能, 以及与神经元和其他细胞类型的相互作用仍有很长的一段路要走。

参 考 文 献

- 1 Gallo V, Ghiani CA. Glutamate receptors in glia: new cells, new inputs and new functions. *Trends Pharmacol Sci*, 2000, 21:252 ~ 258.
- 2 Bacci A, Verderio C, Pravettoni E, et al. The role of glial cells in synaptic function. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1999, 354:403 ~ 409.
- 3 Suchak SK, Baloyianni NV, Perkinson MS, et al. The 'glial' glutamate transporter, EAAT2 (Glt21) accounts for high affinity glutamate uptake into adult rodent nerve endings. *J Neurochem*, 2003, 84:522 ~ 532.
- 4 Hertz L, Yu ACH, Kala G, et al. Neuronal astrocytic and cytosolic mitochondrial metabolite trafficking during brain activation, hyperammonemia and energy deprivation. *Neurochem Int*, 2000, 37:83 ~ 102.
- 5 Shaked I, Ben-Dror I, Vardimon L. Glutamine synthetase enhances the clearance of extracellular glutamate by the neuronal retina. *J Neurochem*, 2002, 83:574 ~ 580.
- 6 Ventura R, Harris KM. Three-dimensional relationships between hippocampal synapses and astrocytes. *J Neurosci*, 1999, 19:6897 ~ 6900.
- 7 Miralles VJ, Martinez-Lopez I, Zaragoza R, et al. Na^+ dependent glutamate transporters (EAAT1, EAAT2, and EAAT3) in primary astrocyte cultures: effect of oxidative stress. *Brain Res*, 2001, 922:21 ~ 29.
- 8 Butterworth RF. Glutamate transporters in hyperammonemia. *Neurochem Int*, 2002, 41:81 ~ 85.