

Caveolae- Caveolin 的血管生物学意义

廖端芳

关永源^④

(衡阳医学院心肺药理研究室, 衡阳 421001. ④中山大学基础医学院)

主题词 Caveolae; Caveolin; 一氧化氮合酶; 胆固醇; 血管

摘 要 Caveolin 是一个相对分子质量为 $(21 \sim 24) \times 10^3$ 的膜蛋白, 高度富集于细胞表面特异性内陷结构 Caveolae, Caveolin 通过磷酸化- 去磷酸化及在高尔基体- Caveolae 之间穿梭调节细胞内胆固醇平衡、一氧化氮合酶活性和血管平滑肌细胞增殖, 是维持血管内环境平衡的重要机制。

Caveolae 是细胞表面特异性内陷结构, 随着 Caveolae 表面标志蛋白 Caveolin 的发现^[1], Caveolae 及其 Caveolin 的生理作用, 尤其在调节细胞胆固醇流出、一氧化氮合酶(NOS) 功能、细胞增殖、细胞迁移和信号传导方面的作用日益受到重视^[2~6]。初步研究发现, Caveolae 是细胞信号传导中心, 与信号传导有关的受体、激酶及联接蛋白质, 如低密度脂蛋白受体(LDLR)、清道夫受体(SR)、蛋白激酶 C(PKC)、G 蛋白等在 Caveolae 区域高度富集^[3]。当配体与受体结合后, Caveolae 顶端融合, 配体- 受体复合物被胞饮入胞浆内, 然后将信号传入细胞核。正常情况下, 内皮细胞和血管平滑肌细胞都存在一定数量的 Caveolae^[7,8]。在病理情况下(如高胆固醇血症等), 细胞表面 Caveolae 数量增加^[9]。Caveolin 是一个相对分子质量为 $(21 \sim 24) \times 10^3$ 的完整膜蛋白, 它由 N 末端区、跨膜区和 C 末端区组成, N 末端和 C 末端均面向胞浆^[10,11]。Caveolin 有 Caveolin- 1、Caveolin- 2 和 Caveolin- 3 几种, 血管内皮细胞和平滑肌细胞主要表达 Caveolin- 1 和 Caveolin- 2^[7]。Caveolin 是一种酪氨酸磷酸化蛋白^[12], 在 v- Src 转染的细胞和胰岛素处理的 3T3L1 脂肪细胞, 可见 Caveolin 磷酸化。Caveolin- eNOS 结合受 Caveolin 酪氨酸磷酸化调节, 在培养的内皮细胞, Caveolin 磷酸化有助于提高 Caveolin- eNOS 复合物的稳定性^[13]。

1 Caveolae 和 Caveolin 参与细胞内胆固醇调节, 维持胆固醇进出平衡

不少研究显示, Caveolae 是游离胆固醇(free cholesterol, FC) 储运和流出的主要部位或“洗涤池”^[4,9,14], Caveolin 是 Caveolae 上 FC 的结合蛋白^[15], Caveolae- Caveolin 协同作用介导细胞内 FC 的转运和流出^[4,5,14,16]。Fielding 等^[4]报道, 当培养的成纤维细胞与 LDL 一同孵育使整个细胞 FC 增加 15% 时, 而在 Caveolae 上却增加近 6 倍, 随后将这些细胞再与 HDL 共同孵育, Caveolae 上的 FC 则被移出到培养基中,

Okadaic acid 可减少 FC 流出。FC 移出率与 Caveolae 上的 FC 含量和 Caveolin mRNA 水平成正比, 细胞内 FC 增加使 Caveolin 表达增加, 反过来, Caveolin 表达增加又促进胆固醇流出。Caveolin 的反义核苷酸在降低 Caveolin mRNA 的同时, 抑制 FC 的流出^[6]。Thyberg 等^[14]报道处于收缩型的血管平滑肌细胞含有较多 Caveolae, 当 LDL 经 LDL 受体进入细胞时, LDL 被运至溶酶体并分解成 FC, FC 与胞内小泡膜上的 Caveolin 结合, 然后经 Caveolin 穿梭将 FC 转运到 Caveolae, 在这里多余的 FC 被排出细胞外, Caveolin 重新回到胞浆参与下一轮 FC 的转运。当血管平滑肌细胞从收缩型转变为合成型时, Caveolae 减少或丢失, Caveolin 主要位于高尔基体, 不能充分发挥穿梭转运功能, FC 在细胞内被酯化并聚集在胞浆小滴, 最终导致泡沫细胞形成。Uittenbogaard A 等^[17]报道 NIH3T3 细胞内有由 Caveolin、热休克蛋白 56 (heat shock protein, HSP)、Cyclophilin 40、Cyclophilin A 和胆固醇组成的运输复合物, Cyclophilin 抑制剂 Cyclosporin A 和 rapamycin 破坏这种复合物并阻止胆固醇向 Caveolae 的快速运输。而不能表达 Caveolin 的淋巴样细胞株(L1210- JF), 则不能形成此复合物, 也不能将新合成的胆固醇运至 Caveolae, 当将 Caveolin cDNA 转染入 L1210- JF 细胞, 则可形成 immunophilin- caveolin 复合物, 并能迅速(10~ 20 min) 发挥转运胆固醇的功能, Caveolae- Caveolin 的功能受 ox- LDL、H₂O₂ 及胆固醇氧化的影响。Smart 等^[16]报道培养的成纤维细胞与胆固醇氧化酶作用 1 h, Caveolin 离开 Caveolae 穿梭到高尔基体, 撤除胆固醇氧化酶, Caveolin 又迅速回到 Caveolae。

2 Caveolae- Caveolin 调节清道夫 BI 受体(scavenger receptor class BI, SRBI) 功能

清道夫 BI 型受体(SRBI) 是近年新发现存在于单核细胞的清道夫受体, 是细胞内胆固醇流出的中介物^[18]。SRBI 含有一个免疫优势区域(immunodominant domain), 这一区域识

别氧化型低密度脂蛋白($\alpha\text{-LDL}$),当 $\alpha\text{-LDL}$ 与SRBI结合后, $\alpha\text{-LDL}$ 通过胞饮或吞噬被内化或将 $\alpha\text{-LDL}$ 转运至Caveolae,SRBI同时也是一种位于Caveolae的HDL受体,选择性介导胆固醇酯从HDL重吸收并介导HDL-依赖性胆固醇流出^[19]。Ji等^[20]报道在转染了SRBI的中国仓鼠卵巢细胞,其胆固醇流出增加3~4倍,若提高培养基中HDL浓度可进一步增加胆固醇流出。Babitt J等^[21]报道在小鼠单核细胞,SRBI与Caveolin-1共同存在于细胞边缘和点状小区的Caveolae,说明Caveolae-Caveolin在SRBI介导的转运方面起重要作用。

3 Caveolae-Caveolin 调节一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS) 功能

不少文献报道NOS的活性受Caveolin的调节^[22~24]。在内皮细胞,Caveolin充当eNOS的“分子伴侣”,当细胞处于静止状态时,大部分eNOS位于Caveolae膜上并与Caveolae结合,eNOS处于失活状态;而当细胞受到A23187、缓激肽等刺激时,钙调蛋白将Caveolin从eNOS-Caveolin复合物中置换出来。eNOS-Caveolin复合物迅速解聚,Caveolin从Caveolae向高尔基体穿梭,eNOS发生去棕榈酸化和磷酸化,从Caveolae解离并被激活,一氧化氮(nitric oxide, NO)合成增加。去棕榈酸化的eNOS可重新回到Caveolae形成新的Caveolin-eNOS复合物,Caveolin-eNOS重新结合使NO合成终止,并为迎接新的刺激提供保障。

4 Caveolae-Caveolin 调节血管平滑肌细胞增殖和迁移

Caveolin参与致分裂原蛋白激酶(mitogene activated protein kinase, MAPK)信号传导通路调节,Mineo等^[25]报道,Caveolae-Caveolin调节生长因子刺激的Ras-Raf相互作用。耗竭Caveolae的胆固醇可导致细胞外信号相关激酶(extracellular signal-related kinase, ERK,亦称MAPK)的高度激活^[26]。Galbiati等^[27]报道细胞在原瘤基因作用下发生转化(transformation)时,Caveolin-1表达明显降低。Caveolin-1向上调节可抑制MAPK通路的稳定性。反过来,MAPK的基础活性能有效地下调Caveolin-1 mRNA和蛋白质表达^[28]。Caveolin-1与MAPK相互作用能非常有效地抑制EGF受体介导的信号经Raf-MEK-1和ERK-2向核内传导,Caveolin-1氨基酸序列的32~95区域参与这种抑制作用。此外,Caveolin还作为多种生长因子受体如胰岛素受体、血小板源性生长因子受体、血管紧张素 ① 受体的激动剂和抑制剂,调控细胞的信号传导,Yamamoto等^[29~31]用培养的3T3-L1脂肪细胞研究显示胰岛素特异性刺激可使Caveolin酪氨酸磷酸化,而PDGF和EGF无此作用。胰岛素在激活Caveolin的同时,伴有胰岛素受体磷酸化。在成纤维细胞,Caveolin-1和3可与PDGF受体特异结合,并使其磷酸化。Caveolin还参与血管平滑肌细胞迁移,在培养的人血管平滑肌细胞,Caveolin向受损细胞前沿大量聚集^[32]。

Caveolae-Caveolin还参与粘附分子调节。Philippova

等^[33]报道,用Triton X-100溶解和密度梯度离心法从来自人和大鼠血管平滑肌细胞分离出的蛋白显示,粘附分子T-Cadherin与Caveolin共存。

值得一提的是,关于Caveolae-Caveolin的研究是国际上逐渐热起来的一个领域,各家报道并不一致^[2],甚至矛盾,如缓激肽对Caveolin-eNOS复合物的作用等^[13,24]。然而,Caveolae-Caveolin调节血管生物学功能的地位已毋庸置疑,彻底弄清Caveolae-Caveolin的作用、网络调控及其整合机制,对阐明高血压、动脉粥样硬化等疾病的发生发展规律、内源性调控机理具有十分重要的意义。

参考文献

- Rothberg K, Heuser JE, Donzell WC, et al. Caveolin, a protein component of caveolae membrane coats. *Cell*, 1992, **68**: 673-682
- Anderson RG. Caveolae: where incoming and outgoing messengers meet. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 10 909-913
- Liu J, Oh P, Horner T, et al. Organized endothelial cell surface signal transduction in caveolae distinct from Glycosylphosphatidylinositol-anchored protein microdomains. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 7 211-222
- Fielding PE, Fielding CJ. Plasma membrane caveolae mediate the efflux of cellular free cholesterol. *Biochemistry*, 1995, **34** (44): 14 288-292
- Fielding PE, Fielding CJ. Intracellular transport of low density lipoprotein derived free cholesterol begins at clathrin-coated pits and terminates at cell surface caveolae. *Biochemistry*, 1996, **35**(47): 14 932-938
- Fielding CJ, Bist A, Fielding PE, et al. Caveolin mRNA levels are up-regulated by free cholesterol and down-regulated by oxysterols in fibroblast monolayers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 3 753-758
- Scherer PE, Lewis RY, Volonte D, et al. Cell-type and tissue-specific expression of caveolin-2. caveolins 1 and 2 colocalize and form a stable hetero-oligomeric complex in vivo. *J Biol Chem*, 1997, **272** (46): 29 337-346
- Thyberg J, Roy J, Tran PK, et al. Expression of caveolae on the surface of rat arterial smooth muscle cells is dependent on the phenotypic state of the cells. *Lab Invest*, 1997, **77**: 93-101
- Hailstones D, Sleer LS, Parton RG, et al. Regulation of caveolin and caveolae by cholesterol in MDCK cells. *Lipid Res*, 1998, **39**: 369-379
- Glenney JR Jr., Spoppet D. Sequence and expression of caveolin, a protein component of caveolae plasma membrane domains phosphorylated on tyrosine in Rsv-transformed fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**: 10 517-521
- Tang Z-L, Scherer PE, Lisanti MP, et al. The primary sequence of murine caveolin reveals a conserved consensus site for phosphorylation by protein kinase C. *Gene*, 1994, **147**: 299-300
- Vepa S, Scribner WM, Natarajan V, et al. Activation of protein phosphorylation by oxidants in vascular endothelial cells: identification of tyrosine phosphorylation of caveolin. *Free Radic Biol Med*, 1997, **22**: 25-35
- Venema VJ, Ju H, Zou R, et al. Caveolin-1 detergent solubility and association with endothelial nitric oxide synthase is modulation by tyrosine phosphorylation. *Biochem Biophys Res Comm*, 1997, **236**:

- 155- 161
- 14 Thyberg J, Calara F, Dimayuga P, et al. Role of caveolae in cholesterol transport in arterial smooth muscle cells exposed to lipoproteins in vitro and in vivo. *Lab Invest*, 1998, **78** (7): 825- 837
- 15 Murata M, Peranen J, Schreiner R, et al. VIP21/ caveolin is a cholesterol- binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 10 339- 343
- 16 Smart EJ, Ying YS, Conrad PA, et al. Caveolin moves from caveolae to the Golgi apparatus in response to cholesterol oxidation. *J Cell Biol*. 1994, **127**: 1 185- 197
- 17 Uittenbogaard A, Ying Y, Smart EJ, et al. Characterization of a cytosolic heat- shock protein- caveolin chaperone complex. Involvement in cholesterol trafficking. *J Biol Chem*, 1998, **273** (11): 6 525- 532
- 18 Jian B, de la Liera- Moya M, Ji Y, et al. Scavenger receptor class B type I as a mediator of cellular cholesterol efflux to lipoproteins and phospholipid acceptors. *J Biol Chem*, 1998, **273** (10): 5 599- 606
- 19 Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, et al. Identification of scavenger receptor SR- BI as a high density lipoprotein receptor. *Science*, 1996, **5248**: 518- 520
- 20 Ji Y, Jian B, Wang N, et al. Scavenger receptor BI promotes high density lipoprotein - mediated cellular cholesterol efflux. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 20 982- 985
- 21 Batitt J, Trigatti B, Rigotti A, et al. Murline SR- BI, a high density lipoprotein receptor that mediates selective lipid uptake, is N- glycosylated and fatty acylated and colocalizes with plasma membrane caveolae. *J Biol Chem*, 1997, **272** (20): 13 242- 249
- 22 Feron O, Saldana F, Michel JB, et al. The endothelial nitric- oxide synthase- caveolin regulatory cycle. *J Biol Chem*, 1998, **273** (6): 3 123
- 23 Prabhakar P, Thatte HS, Goetz RM, et al. Receptor- regulated translocation of endothelial nitric- oxide synthase. *J Biol Chem*, 1998, **273** (42): 27 383- 388
- 24 Ju H, Zou R, Venema VJ, et al. Direct interaction of endothelial nitric oxide synthase and caveolin- 1 inhibits synthase activity. *J Biol Cell*, 1997, **8** (4): 595- 605
- 25 Mineo C, James GL, Smart EJ, et al. Localization of epidermal growth factor- stimulated Rad/ Raf interaction to caveolae membrane. *J Biol Chem*, 1996, **271**: 11 930- 935
- 26 Furuchi T, Anderson RG. Cholesterol depletion of Caveolae causes hyperactivation of extracellular signal- related kinase(ERK). *J Biol Cell*, 1998, **273** (33): 21 099- 104
- 27 Galbiati F, Volonte D, Engelman JA, et al. Targeted downregulation of Caveolin- 1 is sufficient to drive cell transformation and hyperactivate the p42/44 MAP kinase cascade. *EMBO J*, 1998, **17**: 6 633- 648
- 28 Engelman JA, Chu C, Lin A, et al. Caveolin- mediated regulation of signaling along the p42/44 MAP kinase cascade in vivo. A role for the caveolin- scaffolding domain. *FEBS Lett*, 1998, **428** (3): 205 - 211
- 29 Yamamoto M, Toya Y, Jensen RA, et al. Caveolin is an inhibitor of platelet- derived growth factor receptor signaling. *Exp Cell Res*, 1999, **247** (2): 380- 388
- 30 Yamamoto M, Toya Y, Schwenke C, et al. Caveolin is an activator of insulin receptor signaling. *J Biol Chem*, 1998, **273** (41): 26 962 - 968
- 31 Ishizaka N, Griendling KK, Lassegue B, et al. Angiotensin ET_{A} type iv receptor: relationship with caveolae and caveolin after initial agonist stimulation. *Hypertension*, 1998, **32** (3): 459- 466
- 32 Okada S, Tomaszewski JE, Barnathan ES, et al. Migrating vascular smooth muscle cell polarize cell surface urokinase receptors after injury in vitro. *Exp Cell Res*, 1995, **217** (1): 180- 187
- 33 Philippova MP, Bochkov VN, Stambolsky DV, et al. T- cadherin and signal- transducing molecules co- localize in caveolin- rich membrane domains of vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett*, 1998, **429** (2): 207- 210

(此文 1999- 06- 29 收到)

(此文编辑 胡必利)