

破骨细胞质子泵的研究

邓华云 综述 王洪复 陈可靖 审核

近几年,人们在破骨细胞(Osteoclast, OC)质膜上发现一种囊泡型质子泵,其主要功能是承担 OC 的酸分泌,在体内骨吸收和骨重建中起重要作用。由于 OC 体外培养技术的建立和生物化学、生物物理、细胞分子生物学等技术的发展和应用,现已对 OC 质子泵进行了较深入的研究。本文就这方面的研究作一综述。

1 质子泵的基本概念^[1,2]

质子泵是一种推动质子跨膜运动的能量系统,广泛存在于真核细胞内的质膜上。根据存在部位,可将质子泵分为 3 种:细胞膜质子泵、线粒体膜质子泵及囊泡膜质子泵。根据离子运动偶联的不同形式,可将已知的质子泵分为两类:一类为电中性质子泵,又分两种:①驱动质子运动与阴离子协同运转。②驱动质子运动伴有对流的阳离子。另一类为电源性质子泵,即质子内流不伴有其他离子的运转,其电荷补偿依靠被动的阳离子流出或阴离子流入。根据质子泵结构与功能可分为:① E_1E_2 型:大部分细胞膜质子泵属于此类。钒酸盐和哇巴因为此类质子泵的敏感性抑制剂。② F_0F_1 型:即线粒体膜质子泵。由位于细胞质内的催化 ATP 水解的头部(F_1 区)和跨膜区(F_0 区)两部分组成,含多种和多个亚单位。此类质子泵亚单位基因有些位于细胞器中。寡霉素、叠氮化合物为此类质子泵的敏感性抑制剂。③V 型(囊泡型):囊泡膜质子泵和部分细胞膜质子泵(如肾小管上皮插入细胞和 OC 的细胞膜质子泵)属于此类。结构组成与 F_0F_1 型相似,由位于细胞质内的催化 ATP 水解的头部(V_1 区)和位于跨膜区内的 H^+ 通道(V_0 区)两部分组成。V 型质子泵与 F_0F_1 型最

根本的区别,在于 V 型质子泵所有亚单位的基因都分布在核 DNA 中。N-乙基顺丁烯二酰亚胺(NEM)、bafilomycin A_1 (一种大环内酯类抗生素)为此类质子泵的敏感性抑制剂。

2 OC 质子泵的定位

OC 属于单核吞噬细胞系统中的一员,主要功能是骨吸收,在骨重建过程中起启动和先锋作用。静止状态的 OC 无极性,功能状态的 OC 具有明显的极性。被激活的 OC 附着于骨面,在贴附骨质侧的顶极形成皱褶缘,周围被亮区(无细胞器,含丰富的收缩蛋白)紧密环绕,亮区藉整合素与骨基质紧密结合,在 OC 与其贴附的骨面之间形成一密封的微小腔隙,称为细胞外隔室(extracellular compartment),这一腔隙的形成保证了 OC 骨吸收的高效性。OC 向这一腔隙分泌酸和溶酶体酶,导致骨矿物质(羟磷灰石)溶解和骨胶原降解,酸分泌除直接溶解碱性物质羟磷灰石外,还为各种溶酶体酶发挥作用提供了一个最合适的酸环境,因而曾推测 OC 存在一种高效能质子泵,它在 OC 酸泌过程中起关键作用。这一推测后来得到证实。Blair 等^[3]和 Vaananen 等^[4]分别利用猪肾或 *Neurospora crassa* 囊泡型质子泵亚单位抗体,对鸡髓状骨或大鼠小梁骨进行免疫组织化学染色和免疫电镜扫描,结果发现仅 OC 有染色。骨髓细胞和髓状骨其它骨细胞(包括成骨细胞)均无明显染色。功能状态 OC 和静止状态 OC 的染色不同,大多数被染色细胞(95%)为功能状态 OC,其染色主要存在于 OC 皱褶缘,少数被染色细胞(5%)为静止状态 OC,其染色呈弥漫性分布。甲状旁腺激素能进一步增强功能性 OC

皱褶缘的染色。由此推测 OC 皱褶缘可能由 OC 胞浆内囊泡融合而成,在融合过程中,质子泵被插入皱褶缘中。

3 OC 质子泵的结构

OC 质子泵同其它质子泵相似,也由位于 OC 胞浆内能催化 ATP 水解的头部(V_1 区)和跨膜的 H^+ 通道(V_0 区)两部分组成。目前对 OC 质子泵结构的研究尚局限于亚单位组成的研究,尚缺乏对亚单位间的空间排列、亚单位的三维结构等方面的研究。多数研究表明,OC 质子泵结构和性质同其它类型的质子泵相似。其 VS_1 区由 71 KDa(A)、57KDa(B)、42KDa(C)、32KDa(D)、26KDa(E)等 5 种亚单位组成^[5,6],其中的 C、D、E 亚单位基因已从人破骨细胞瘤组织克隆成功^[6], V_0 区由 20KDa(a)、17KDa(c)和附属亚单位 116KDa、39KDa 等 4 种亚单位组成。但是也有研究报道,OC 质子泵结构和性质同其它类型的质子泵存在明显差异^[7]。

4 OC 质子泵与 OC 酸分泌

用电位夹技术消除膜内外电位差后,OC 微囊体质子泵质子转运和囊泡内外 pH 梯度形成均明显加速,说明 OC 质子泵也是一种电源性质子泵^[8],其电荷补偿依赖于 Cl^- 被动进入 OC 内, Cl^- 主要经 Cl^-/HCO_3^- 交换方式进入 OC 细胞, Cl^-/HCO_3^- 交换载体存在 OC 基底膜, HCO_3^- 来源于由 OC 内的碳酸酐酶催化 CO_2 和 H_2O 形成的 H_2CO_3 的解离。进入 OC 内的 Cl^- 经存在于 OC 皱褶缘的 Cl^- 通道和 H^+ 排入 OC 细胞外腔隙。现已证实 OC 皱褶缘确实存在这种 Cl^- 通道。

5 OC 质子泵的特异性抑制剂

自从 OC 质子泵发现以来,人们一直在努力探寻 OC 质子泵的特异性抑制剂。Mattsson 等的研究^[9]证实,bafilomycin A_1 对 OC 质子泵也具有明显的抑制作用,且这一作用较它对胃质子泵(H^+-K^+ ATPase)的抑制作用要强 10^4 倍,它的 OC 骨吸收抑制效应($IC_{50}=2.5nmol$)也明显强于它的胃酸分泌抑制效应($IC_{50}=5\mu mol$),而胃质子泵特异性抑制剂 Omeprazole

则正好相反。bafilomycin A_1 对 OC 质子泵抑制作用的机理尚不清楚。Rutiala 等^[10]在用亲和层折法提纯 OC 微囊体组分时发现,bafilomycin A_1 主要与 OC 质子泵 17kDa 亚单位结合,从而提示它可能主要作用于 OC 质子泵的跨膜区(V_0 区)。

OC 在生理性、病理性骨吸收(如骨质疏松症,变形性骨炎)过程中均担负着最直接的作用,OC 主要藉排泌酸和酶至细胞外腔隙而发挥骨吸收作用,而 OC 质子泵在这一过程中起着重要作用。对 OC 质子泵的深入研究,将有助于我们更深入地理解生理条件和各种病理条件下的骨代谢情况。另外,OC 质子泵特异性抑制剂的研究和开发,将为临床治疗骨质疏松症、变形性骨炎等疾病提供一条新的有效治疗途径。

参考文献

- 1 姜淑华,钟慈声.囊泡膜质子泵的研究.生理科学进展,1993,24(2):164.
- 2 Bowman EJ,Stebbers A,Altendorf K. Bafilomycins: a class of inhibitors of membrane ATPases from microorganisms, animal cells and plant cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1988,85:7972.
- 3 Blair HC, Tettelbaum SL, Ghiselli R, et al. Osteoclastic bone resorption by a polarized vacuolar proton pump. Science, 1989,245:855.
- 4 Väänänen HK, Karhukorpi K, Sundquist K, et al. Evidence for the presence of a proton pump of the vacuolar H^+ -ATPase type in the ruffled borders of osteoclasts. J Cell Biol, 1990,111(3):1305.
- 5 Mattsson JP, Schesinger PH, Keeling DJ, et al. Isolation and reconstitution of a vacuolar-type proton pump of osteoclast membranes. J Biol Chem, 1994,269(40):24974.
- 6 Van Hdler B, Vanek M, Richener H, et al. Cloning and tissue distribution of subunits C, D and E of the human vacuolar H^+ -ATPase. Biochem Biophys Res Commun, 1993, 197(1):15.
- 7 Chatterjee D, Chakraborty M, Lent M, et al. Sensitivity to vanadate and isoforms of subunits A and B distinguish the osteoclast proton pump from other vacuolar H^+ -ATPases. Proc Natl Acad Sci USA, 1992,89:6257.
- 8 Mattsson JP, Lorentzoo P, Wallmark B, et al. Characterization of proton transport in bone derived membrane vesicles. Biochim Biophys Acta, 1993, 1145: 106.
- 9 Mattsson JP, Väänänen K, Wallmark B, et al. Omeprazole and bafilomycin, two proton pump inhibitors: differentiation of their effects on gastric, kidney and bone H^+ -translocating ATPases. Biochim Biophys Acta, 1991, 1065:261.
- 10 Rautiala TJ, Koskinen AMP, Väänänen HK. Purification of vacuolar ATPase with bafilomycin C_1 affinity chromatography. Biochem Biophys Res Commun, 1993, 194 (1):50.