

生物膜与疾病

主编 程 时

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

DE 19/00

生物膜与疾病

程 时 主编

编 写 人 员

程 时	北京医科大学	生物物理教研室
杜国光	北京医科大学	生物化学教研室
李 刚	北京医科大学	生物物理教研室
潘华珍	中国医学科学院	生物化学教研室
张新波	北京医科大学	心血管基础研究所
周柔丽	北京医科大学	细胞生物教研室



北京医科大学 联合出版社
中国协和医科大学

(京) 新登字147号

图书在版编目(CIP)数据

生物膜与疾病/程时主编. —北京: 北京医科大学中国
协和医科大学联合出版社, 1994

ISBN 7-81034-335-1

I. 生… II. 程… III. 生物膜-关系-疾病 IV. ①Q73②
R318.021

中国版本图书馆CIP数据核字(94)第08706号

北京医科大学
中国协和医科大学联合出版社出版发行

(100083 北京学院路38号 北京医科大学院内)

北京密云华都印刷厂印刷 新华书店经销

* * *

开本: 850×1168 1/32 印张: 9 字数: 234千字

1994年12月第1版1994年12月北京第1次印刷 印数: 1-2000册

定价: 5.35元

序

二十多年前，Singer与Nicolson提出了生物膜的液态镶嵌模型，从而成为生物膜研究中的一个重要的里程碑。这一学说的精髓，在于从分子运动的角度来认识生物膜的结构与功能，因而把几十年以来对生物膜的认识从静态转变到动态，把生物膜在物质运输、能量转换以及信息传递等重要功能作用的研究，牢固地建立在分子水平和分子生物学的理论基础之上。

生物膜研究的这一成就，极大地激发了人们对疾病状态下生物膜的改变以及疾病的预防与治疗等实际医学问题的研究兴趣，并已取得了一些成果。目前，越来越多的医务工作者已经认识到有关生物膜的基本理论在研究疾病及其防治中的重要性，并逐步掌握了用这些知识考虑相关疾病的研究。例如关于膜的流动性及其变化在心血管疾病、肿瘤与衰老时的重要性；自由基在缺血再灌、衰老以及许多其它疾病中的作用；通道与受体的构象、数量变化及其缺陷在神经性与免疫性疾病中的影响等等。但是这方面的知识还有待于更广泛地在医学生和医学研究人员中的传播与普及。

由程时同志主编的这本《生物膜与疾病》就是为了适应这一需要而编写的。这本书是在最近8年来在北京医科大学为研究生开设的同名课程的经验基础之上，由各方面专家编写而成的。本书的特点是既介绍了近代有关膜的基本知识，也综述了近十年来与疾病有关的膜变化的研究。前者对于获得较系统、完整的有关膜与疾病的知识是有帮助的，而后者则为感兴趣的研究工作者提供了必要的、比较新的资料。希望本书的出版对医学生和专业研究人员都能有所裨益。

林克椿

1994.1.

目 录

第一章	生物膜结构·····	(1)
第二章	红细胞膜结构与功能·····	(17)
第三章	动脉粥样硬化症与生物膜·····	(59)
第四章	脂质流动性与呼吸窘迫综合征·····	(101)
第五章	乙醇与生物膜·····	(121)
第六章	自由基与生物膜·····	(141)
第七章	衰老与生物膜·····	(183)
第八章	神经、肌肉疾患与生物膜·····	(199)
第九章	膜受体与疾病·····	(214)
第十章	膜糖蛋白与疾病·····	(232)
第十一章	鞘糖脂的研究进展与疾病·····	(257)

第一章 生物膜结构

细胞是生命的基本单位；生物膜是细胞的基本结构。生物膜的存在使细胞不同于一团分子的溶液。当然，生命的蓝本是基因，但生命的进化过程是对基因所决定的产物——蛋白质和膜的选择过程。这就如同有载氧能力的是血红蛋白而不是决定血红蛋白的基因。生命的进化过程不仅体现在基因的数量增加，也反映了细胞结构的丰富。真核细胞与原核细胞本质上的差别是前者有由膜构成的细胞器 (Organelle)。这些细胞器占细胞体积的一半。多细胞生物与单细胞生物的差别在于前者有复杂且相互作用的细胞膜。随着对细胞研究的不断深入，人们逐渐认识到生物膜是一种动态的结构。包裹着细胞的质膜 (Plasma membrane) 和细胞内的膜系统不仅是简单的界膜，起着分割和屏障的作用，而且参与全部生命活动。物质的合成分解与运输、能量的生成与利用、信息的传递、细胞的游走与吞噬等过程都离不开生物膜结构；有些是在膜中完成的。可以说生物膜是细胞生命活动的主要场所。

第一节 生物膜组成

生物膜是由多种脂类、蛋白质及与膜表面结合的结构水 (structural water) 和离子组成的。

脂类是一些不溶于水而溶于有机溶剂的大分子。在膜中主要是起结构作用，并通过其流动性及一端的极性作用辅助蛋白质的功能。脂的极性端还参与生物膜间的相互作用。有少数几种脂类，如磷脂酰肌醇等，还参与信息的传递过程。

多数膜蛋白都有一定的生物学功能，并且是膜结构的一部分

分。膜蛋白在细胞与外界的相互作用及物质和信息的交换中起着重要的作用。许多膜蛋白是酶、受体、或通道等等。

通过对膜的研究，人们逐渐认识到生物膜是一个包括膜表面的结构水和与膜相互作用的离子的立体结构；在许多情况下必须把膜和临近膜的环境做为一个整体加以考虑。

(一) 脂类

生物膜脂类主要由磷脂(phospholipid)、糖脂(glycolipid)和类固醇(steroid)组成。

磷脂在生物膜中，尤其是在动物膜体系中的含量较高。磷脂可分为甘油磷脂(phosphoglyceride)和鞘磷脂(sphingomyelin, SM)。最简单的甘油磷脂是磷脂酸(phosphatidic acid, PA)。在生物膜中只有少数的磷脂酸；但磷脂酸是合成磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)、磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)、磷脂酰甘油(phosphatidylglycerol, PG)和磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)等磷脂的重要中间产物。SM在一般条件下的构象与PC的很相似，但其结构却很独特；其骨架是一带有长而不饱和碳氢链的鞘氨醇。心磷脂(cardiolipin, CL)是一种仅多见于线粒体中的磷脂；它由共用一个甘油的两个PG组成。上述磷脂的结构见图1.1.1。

糖脂普遍存在于动物细胞的质膜外层；种类繁多，与细胞的识别和免疫功能有关。植物膜和微生物膜中亦有大量的糖脂存在。在叶绿体内膜中的糖脂起重要的结构作用。虽然动物膜中的糖脂含量很少，但随动物种属、器官的差别很大。动物膜中的多数糖脂是以鞘氨醇为骨架的鞘糖脂(glycosylsphingolipid)；并且多数是电中性的。其骨架通过酰胺键与一脂肪酸链相接；其极性头部是单糖或多糖。有些比较简单，如脑苷脂(cerebroside)，其极性头部是一葡萄糖或一半乳糖。有些比较复杂，如神经节苷

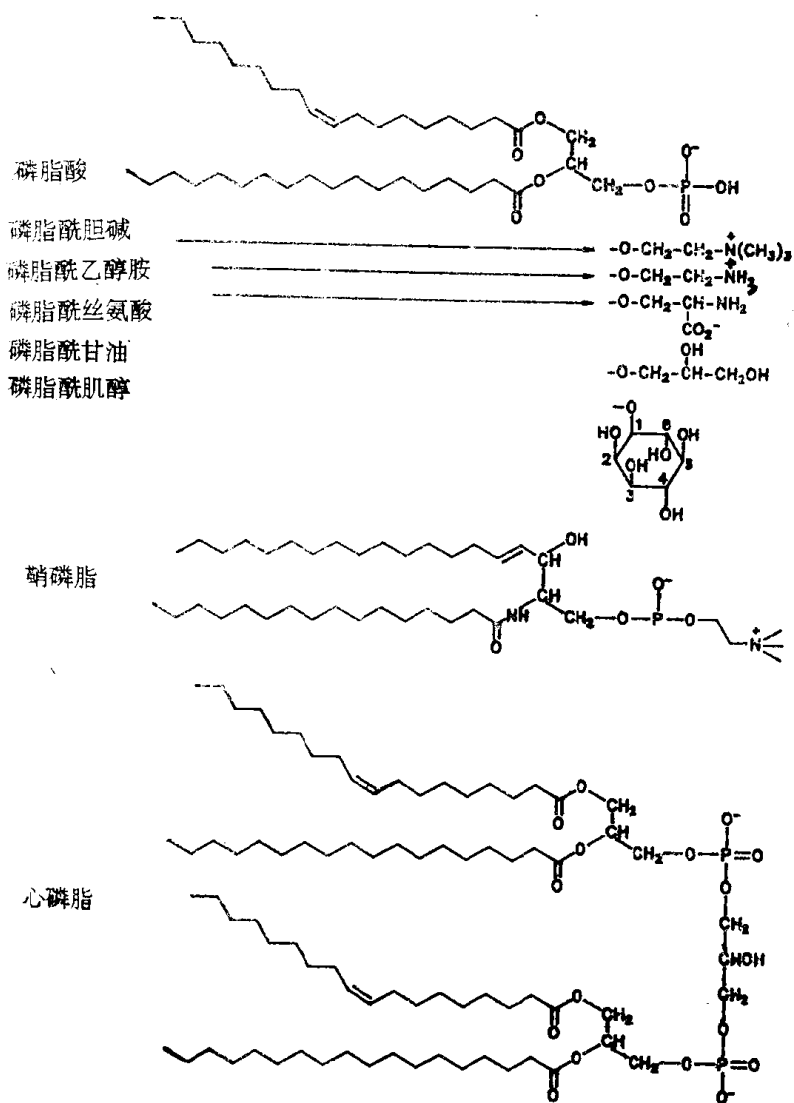


图1.1.1 生物膜中常见的磷脂结构

脂 (ganglioside), 其极性头部可以是一有分枝的唾液酸糖(见图1.1.2)。植物膜和微生物膜中的糖脂多是以甘油为骨架的甘油

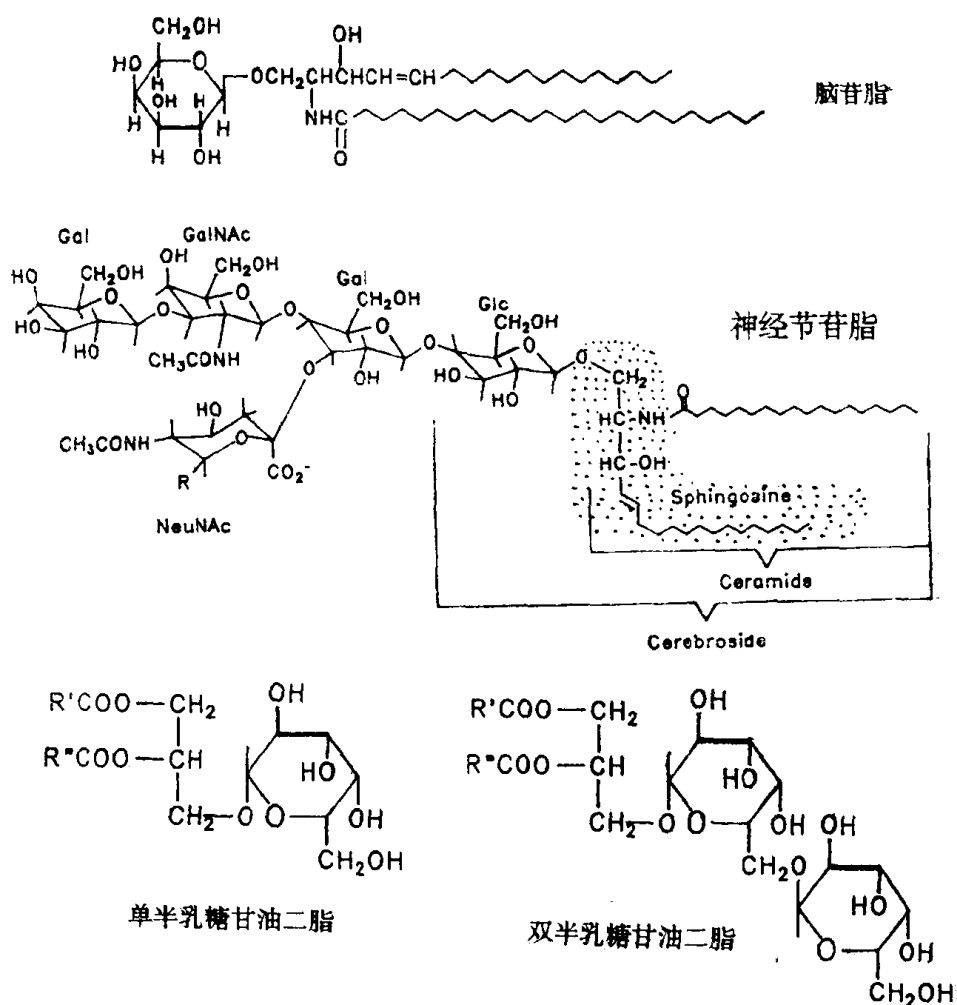


图1.1.2 生物膜中常见的糖脂结构

糖脂 (glycoglyceride)。少量的甘油糖脂也存在于某些哺乳动物脑细胞膜中，其生物学意义和基因的进化过程还不十分清楚。

动物膜中主要的类固醇成分是胆固醇(cholesterol)；但痕量的胆固醇也普遍地存在于许多植物膜中。在植物膜和微生物膜中的主要类固醇有谷固醇(sitosterol)、豆固醇(stigmasterol)和麦角固醇(ergosterol)。类固醇分子几乎都是电中性的(见

图1.1.3)。胆固醇的结构是含有碳环的平面类固醇加一个羟基。其他类固醇也有类似的结构。这些植物和微生物类固醇并非与医学毫无关系。首先它们是食物中的成分；是消化的对象。如麦角固醇是维生素D合成的原料之一。

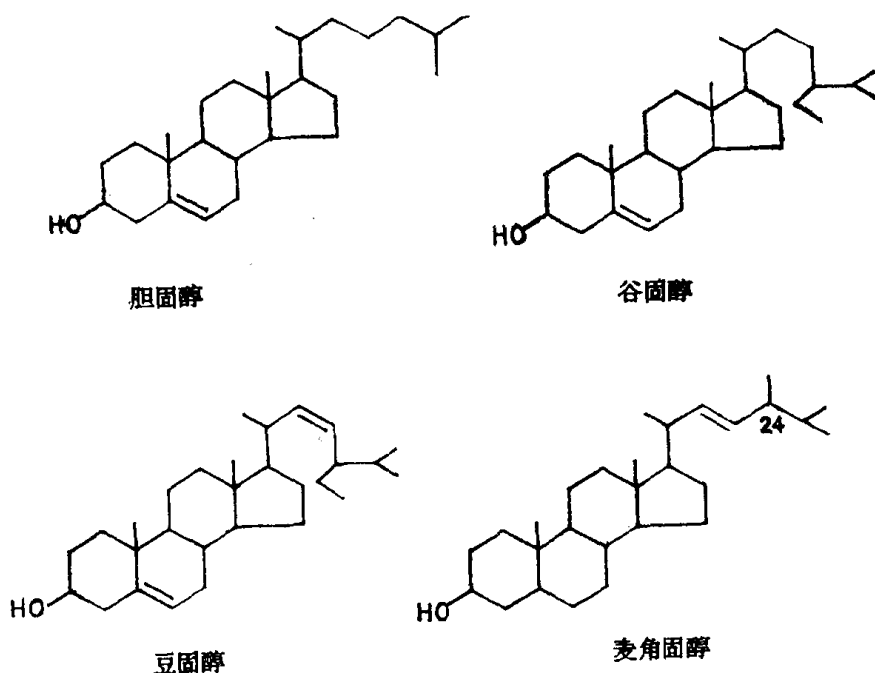


图1.1.3 类固醇

(二) 膜蛋白

膜蛋白是极其多种多样的。其基本结构是 α 螺旋和 β 折叠。按分子量的大小，人们通常把这种氨基酸的聚合物分别称为多肽 (polypeptide) 和蛋白质。蛋白质的分子量大，结构也复杂。许多蛋白质是由两个或更多的肽链亚单位组成的。这给蛋白质的研究带来了很大的困难。难点在于这种亚单位间的结合很容易在研究过程中被破坏。按蛋白质在膜上的位置及其与膜的结合程度可分为外周蛋白 (peripheral protein) 和内在蛋白 (integral protein)。

protein)。顾名思义，外周蛋白是指膜表面上的蛋白质，内在蛋白是膜中的蛋白质。实际上外周蛋白与内在蛋白的区分是由蛋白质的分离手段的不同而定的。外周蛋白是指那些很容易从膜表面洗脱的蛋白质，如细胞色素C(cytochrome C)、膜收缩蛋白(spectrin)等；内在蛋白是指那些必须用较强的表面活性剂或有机溶剂解除膜脂与膜蛋白的相互作用才能得到的蛋白质，如视紫红质蛋白(rhodopsin)、血型糖蛋白(glycophorin)等。蛋白质的一级结构是其氨基酸序列。至今所有的研究结果都表明膜蛋白的二级结构(secondary structure)也毫无例外地都是由 α 螺旋和 β 折叠两种形式组成。这些蛋白质的二级结构是由氨基酸残基之间的氢键(hydrogen bond)构成的(见图1.1.4)。这些氢键像水分子之间的氢键一样，是一种较弱的结合。这是蛋白质结构容易改变的内在原因。蛋白质的稳定是因为这些氢键的数目很大和许多非极性残基的疏水作用(hydrophobicity)。所谓疏水作用实际上是水分子排斥那些不能与之形成氢键的非极性基团，水分子彼此之间形成尽可能多的氢键结合，从而降低自由能的一种趋势。蛋白质的 α 螺旋和 β 折叠按一定的形式组合加上与膜脂的相互作用形成了膜蛋白的三维结构(tertiary structure)。因此膜蛋白只有处于类似于膜中环境才能稳定地保持其结构和形貌。

由于分子生物学的进展，人们已经得到了26000个蛋白质的氨基酸序列(1993初)。其中包括大量膜蛋白的氨基酸序列。然而至今人们只得到了十几个膜蛋白的三维结构；其分辨率也不够理想。目前最好的情况是对光合作用细菌*R. viridis*捕光中心蛋白的x-光衍射的研究；已得到分辨率优于0.25nm的三维结构(有几个类似的光合反应中心蛋白的结构研究也达到了相近的水平；1992)。其次是细菌紫红质(平行于膜表面方向0.65nm，垂直于膜表面方向1.2nm；1991)和*synechococcus* sp. 中的光合系统I的捕光中心蛋白(0.6nm；1993)。

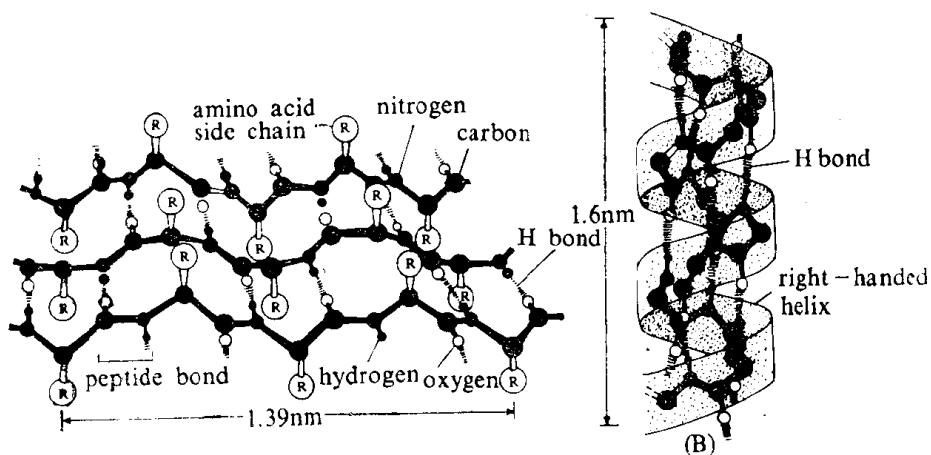


图1.1.4a β 折叠和 α 螺旋

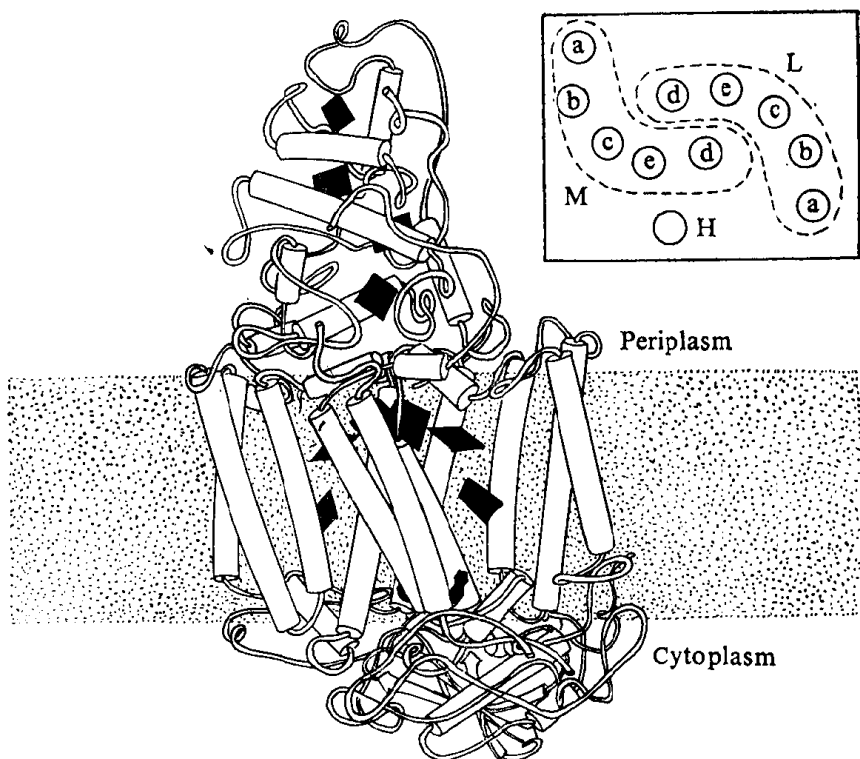


图1.1.4b *R. viridis* 捕光中心蛋白三维结构示意图

第二节 膜脂及其多形性

生物膜中脂的种类是极其多种多样的。这是因为脂的极性头部有许多种；脂的脂肪酸链也有许多种。生物脂肪酸链一般是链长为16到24个碳的碳氢链，并且总是偶数。表1.2.1中是最常见于生物膜中的脂肪酸。表1.2.2中是一些红细胞膜的脂成分。脂分子的极性头部和碳氢链共同决定了脂分子的结构和物理化学性质。与蛋白质相比，脂分子的结构很简单。但脂分子与水的混合物却可以形成许多种不同的结构。脂分子的这种性质叫脂的多形性(lipid polymorphism)。在同样的条件下，不同的脂可以形成不同的结构。同一种脂在不同的条件下也可以形成不同的结构。一个脂的体系在一段比较窄的温度范围内与外界环境交换能量并改变结构形式的过程叫做脂的相变(lipid phase transition)。脂—水体系的物理化学状态是其成分及温度的非线性函数：这种函数关系的图示称为相图(phase diagram，如图1.2.2)。

表1-2-1 常见于生物膜中的脂肪酸链

通俗名	链长及不饱和程度
月桂酸(lauric)	12:0
肉豆蔻酸(myristic)	14:0
棕榈酸(palmitic)	16:0
棕榈油酸(palmitoleic)	16:1(9-cis)
硬脂酸(stearic)	18:0
油酸(oleic)	18:1(9-cis)
十八碳烯酸(vaccenic)	18:1(11-cis)
亚油酸(linoleic)	18:2(9-cis,12-cis)

表1-2-2 一些哺乳动物红细胞膜脂成分（总脂干重百分比）

	人	猫	马	鼠	兔	猪
胆固醇	26.0	26.8	24.5	24.7	28.9	26.8
磷脂酰胆碱	17.5	18.7	22.0	31.8	22.3	13.9
鞘磷脂	16.0	16.0	7.0	8.6	12.5	15.8
磷脂酰乙醇胺	16.6	13.6	12.6	14.4	21.0	17.7
磷脂酰丝氨酸	7.9	8.1	9.4	7.2	8.0	10.6
磷脂酰肌醇	1.2	4.5	<0.2	2.3	1.0	1.1
磷脂酸	0.6	0.5	<0.2	<0.2	1.0	<0.2
溶血磷脂酰胆碱	0.9	<0.2	0.9	2.6	<0.2	0.5
鞘糖脂	11.0	11.9	23.5	8.3	5.3	13.4

当把一滴溶于有机溶剂的脂轻轻地滴在水的表面时，脂分子可以在水与空气的界面上形成脂的单层膜（见图1.2.1）。这种膜常被称为L-B膜。L-B膜是用来研究生物膜及生物大分子的一种工具。如不久前有人将维生素E与磷脂进行共价结合，再将链抗生物素蛋白(streptavidin)与上述材料形成的L-B膜结合；而L-B膜上的链抗生物素又可以从液相中捕捉其他蛋白质以便进行一系列的研究。L-B膜技术也广泛地用于感光材料和有机—金属导体及生物工程材料的研究。

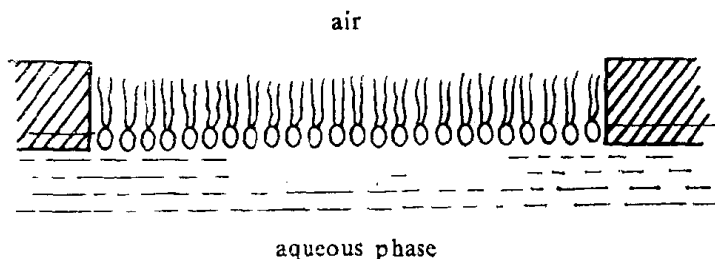


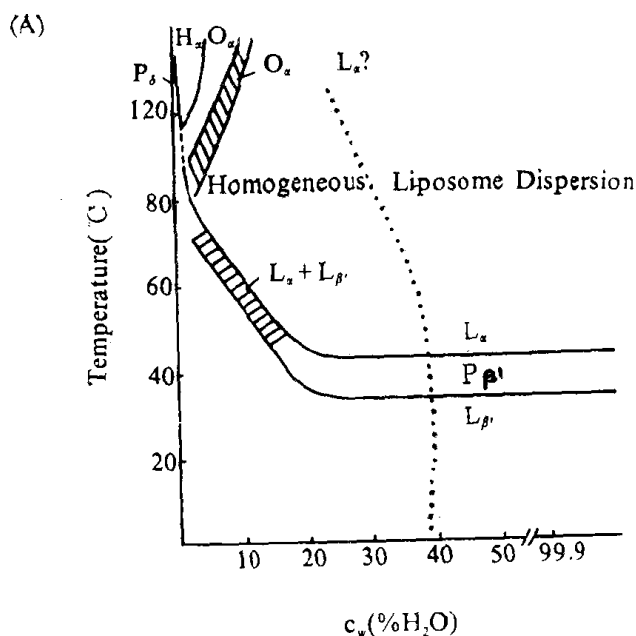
图1.2.1 水-空气界面上的脂单分子层

当少量有极性基团的脂处于水中时，这些脂分子能以单体的形式溶于水中。已有的研究表明，细胞中只可能有极少量的脂分子单体存在。脂分子的运输一般是靠运载蛋白来完成的。但人们常将脂溶于少量的乙醇加入所研究的体系。在比较理想的情况下，脂分子会以单体的形式迅速地扩散到适合的膜环境。然而水中脂分子单体的浓度并不会无限地增加。当水中的脂单体浓度达到一定极限时，就会出现脂的聚集体。在有水分子参与的情况下，脂的聚集体一般是胶体 (gel) 或液晶体 (liquid crystalline)。一些脂分子的极性基团的有效截面大于其非极性尾部截面，如脂肪酸 (fatty acid)、脑苷脂等，在水中可以形成一种头向外，尾向内的微团 (micellae; pl. micella。但近来常被写成 micelle)。这一微团开始出现时的浓度称为临界微团浓度 (critical micelle concentration, CMC)。CMC 是使用表面活性剂和脂分子探针时的一个重要数据；一般数值很低。如 DPPC (dipalmitoylphosphatidylcholine) 的 CMC 是 0.47 nmol/L 。当然并非所有的脂都能形成这种微团；而可以形成微团的脂分子在一定的浓度和条件下还可以形成其他结构。

多数生物膜脂与水混合体系的结构是多层的囊泡；在冰冻裂解电镜图像中呈片层结构。这些片层结构 (lamella) 是由脂双层 (lipid bilayer) 组成的。图 1.2.2 是 DPPC-水体系的相图。DPPC 在水中形成脂双层，极性头排列在一平面上，两层脂的尾部对在一起成为双层膜的中心；双层与双层之间是水。在正常生理条件下，生物膜中的脂就是采取脂双层的结构形式；至今尚未发现例外情况。DPPC 的脂双层结构可以粗略地分为凝胶相和液晶相。在凝胶相中 DPPC 脂分子的脂肪酸链呈直伸形状，分子的取向一致，其位置也呈规则地周期排列。水的比例小时，磷脂的脂肪酸链与膜表面成一定的倾角；水充足时脂肪酸链与膜表面垂直。当 DPPC 处于液晶相时，其脂肪酸链可自由地摆动；在膜的单层内脂分子可自由地交换位置 (10^7 S^{-1})。然而某一单层的脂分

子翻转到另一单层则很慢。一个磷脂分子在数小时或更长的时间内才翻转一次。当DPPC从凝胶相转变到液晶相时,脂双分子层的厚度减小由4.6nm减至4.1nm;同时每个脂分子所占的面积增大由0.48nm²增至0.60~0.7nm²。从DPPC的差示扫描量热曲线和x-光衍射结果来看,在其凝胶相到液晶相的转变过程中有一中间相,称为波纹相(ripple phase, P_β)。其结构见图1.2.2。虽然DPPC在生物膜中的比例不大,但这类人工膜的研究使我们对生物膜脂成分的物理化学性质有所了解。

当然,生物膜的成分是复杂的。离体实验表明:许多生物膜脂在常温下不能在水中形成脂双层结构。如许多生物膜中的磷脂酰乙醇胺、心磷脂在含钙的条件下及半乳糖甘油二脂等独立地处于水中时,只能形成六角相(H_{II} , 见图1.2.2)。除此之外,脂分子还能形成许多种非双层结构。至今在生理状况下尚未发现生物膜中非双层结构的存在。这些非双层脂在生物膜中的作用还不清楚。



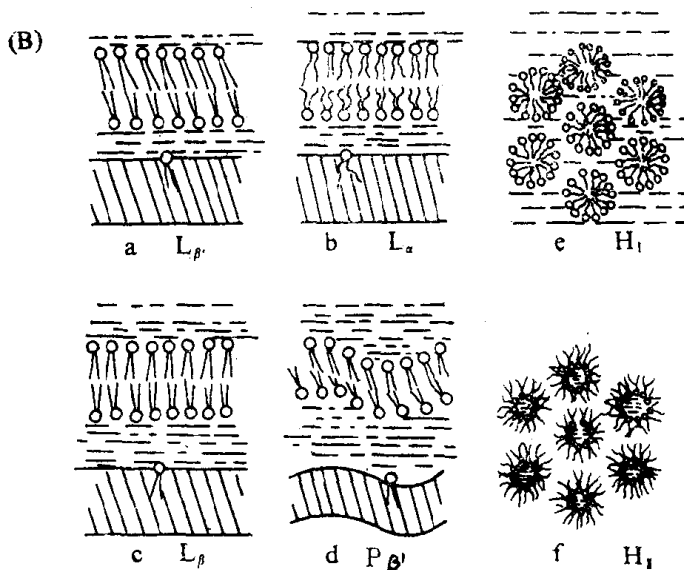


图1.2.2 DPPC-水体系的相图 (A) 和一些常见的脂-水体系的结构示意图 (B)

楚。非双层结构及其生物学意义一直是人们非常感兴趣的问题，尤其是在与膜融合有关的方面。

第三节 膜脂与蛋白质的相互作用

目前普遍采用的生物膜模型是流动镶嵌模型 (见图1.3.1)。生物膜是脂分子和蛋白质形成的二维液晶体。膜的各成分之间是以非共价的结合方式聚集的。其中的脂分子形成双分子层状结构。部分脂分子与内在膜蛋白有稍强的相互作用。膜蛋白在膜内有侧向的“流动”和转动，但不能从膜的一侧翻转到另一侧。